

Aus dem Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde
der Justus Liebig-Universität zu Gießen
Direktor: Professor Dr. H. Bartels

**Systematische mikrobiologische und technologische
Untersuchungen zur Verbesserung der Beschaffenheit
vom Tier stammender Lebensmittel**

Wachstumsbeeinflussung von drei Bacillusarten durch pH-Wert,
Natriumchlorid, Natriumacetat und Natriumdiacetat
in Einzel- und Kombinationswirkungen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
Heide Angersbach geb. Frank sen
Tierärztin aus Peine

Gießen 1970



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545915_0008

Aus dem Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde
der Justus Liebig-Universität zu Gießen
Direktor: Professor Dr. H. Bartels

**Systematische mikrobiologische und technologische
Untersuchungen zur Verbesserung der Beschaffenheit
vom Tier stammender Lebensmittel**

Wachstumsbeeinflussung von drei Bacillusarten durch pH-Wert,
Natriumchlorid, Natriumacetat und Natriumdiacetat
in Einzel- und Kombinationswirkungen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
Heide Angersbach geb. Franksen
Tierärztin aus Peine

Gießen 1970

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät
in Gießen

Dekan: Professor Dr. H. Tillmann

Berichterstatter: Professor Dr. H. Bartels

Tag der mündlichen Prüfung: 10. Juli 1970



Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
A <u>Einleitung</u>	5
B <u>Schrifttum</u>	8
I Systematische Stellung der zur Untersuchung verwendeten Mikroorganismen	8
II Differenzierung aerober Sporenbildner	9
1.) Morphologische Eigenschaften	10
2.) Biochemische Eigenschaften	11
III Rechtsvorschriften über die Verwendung von Hilfsstoffen in der Fleischtechnologie	12
IV Die Auswirkung der Wasserstoffionenkonzentration auf aerobe Sporenbildner	15
a) Wirkungsweise des pH-Wertes auf Mikroorganismen	15
b) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch verschiedene Wasserstoffionenkonzentrationen	16
c) Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch verschiedene Wasserstoffionenkonzentrationen	22
d) Beeinflussung anderer Eigenschaften aerober Sporenbildner durch verschiedene Wasserstoffionenkonzentrationen	24
V In der Fleischtechnologie verwendete Hilfsstoffe in ihrer Auswirkung auf aerobe Sporenbildner	25
1.) Natriumchlorid	25
a) Wirkungsweise von Kochsalz auf Mikroorganismen	25
b) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Kochsalz	27

	<u>Seite</u>
c) Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch Kochsalz	38
d) Beeinflussung anderer Eigenschaften aerober Sporenbildner durch Kochsalz	41
2.) Essigsäure, Natriumacetat, Natriumdiacetat	42
a) Wirkungsweise von organischen Säuren auf Mikroorganismen	42
b) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Essigsäure	43
c) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Natriumacetat	49
d) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Natriumdiacetat	49
e) Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch Essigsäure und Natriumacetat	50
3.) Zitronensäure, Natriumcitrat	51
a) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Zitronensäure	52
b) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Natriumcitrat	54
c) Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch Zitronensäure und Natriumcitrat	54
d) Beeinflussung anderer Eigenschaften aerober Sporenbildner durch Zitronensäure	55
4.) Milchsäure, Laktat	55
a) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Milchsäure	55
b) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Laktat	57
c) Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch Milchsäure	58
5.) Weinsäure, Tartrat	58

	<u>Seite</u>
6.)Phosphat	59
a) Wirkungsweise von Phosphaten auf Mikroorganismen	59
b) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Phosphate	60
c) Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch Phosphate	61
7.)Nitrat und Nitrit	63
a) Wirkungsweise von Nitrat und Nitrit auf Mikroorganismen	63
b) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Nitrat	65
c) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Nitrit	65
d) Kombinierte Wirkung von Nitrat und Nitrit	67
e) Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch Nitrat und Nitrit	67
8.)Kombination verschiedener Hilfsstoffe (einschließlich pH-Wert) in ihrer Auswirkung auf aerobe Sporenbildner	68
a) Kombination verschiedener Kochsalzkonzentrationen und pH-Werte	68
b) Kombination verschiedener Essigsäure-, Zitronensäure-, Weinsäure-, Milchsäurekonzentrationen und deren Salze mit Kochsalz	71
c) Kombination verschiedener Kochsalz- und Pökelfstoffkonzentrationen	73
d) Kombination verschiedener pH-Werte und Phosphatkonzentrationen	75
e) Kombination von Phosphat mit Zitronensäure, Weinsäure und Pökelfstoffen	75

	<u>Seite</u>
VI Einfluß der Feuchtigkeit auf das Wachstum aerober Sporenbildner	76
VII Einfluß bestimmter fleischtechnologischer Verfahren auf das Wachstum aerober Sporen- bildner	83
1.) Hitze	83
2.) Kälte	87
C <u>Eigene Untersuchungen</u>	91
I Material	91
II Methodik	92
1.) Herstellung von Sporensuspensionen	92
2.) Versuchsdurchführung	93
3.) Statistische Auswertung der Ergebnisse	96
III Ergebnisse	99
1.) pH-Werte	101
2.) Kochsalz	103
3.) Natriumacetat	105
4.) Natriumdiacetat	107
5.) Kombination verschiedener Kochsalzkon- zentrationen und pH-Werte	109
6.) Kombinationen verschiedener Kochsalz- und Natriumacetatkonzentrationen	115
7.) Kombinationen verschiedener Kochsalz- und Natriumdiacetatkonzentrationen	122
8.) Kombinationen verschiedener pH-Werte, Kochsalz- und Natriumacetatkonzentra- tionen	128
9.) Kombinationen verschiedener pH-Werte, Kochsalz- und Natriumdiacetatkonzent- rationen	143
D <u>Besprechung der Ergebnisse und Diskussion</u>	151
I Besprechung der Versuchsmethode	151

	<u>Seite</u>
II Besprechung der Ergebnisse	153
1.) pH-Werte	153
2.) Kochsalz	154
3.) Natriumacetat	155
4.) Natriumdiacetat	156
5.) Kombinationen verschiedener Kochsalz- konzentrationen und pH-Werte	159
6.) Kombination verschiedener Kochsalz- und Natriumacetatkonzentrationen	160
7.) Kombinationen verschiedener Kochsalz- und Natriumdiacetatkonzentrationen	161
8.) Kombinationen verschiedener Kochsalz- und Natriumacetatkonzentrationen mit pH-Werten von 5,5 und 6,0	164
9.) Kombinationen verschiedener Kochsalz- und Natriumdiacetatkonzentrationen mit pH-Werten von 5,5 und 6,0	165
III Zusammenfassende Besprechung der Ergebnisse	167
IV Auswertung der Ergebnisse unter fleischtechno- logischen und fleischhygienischen Gesichts- punkten	172
1.) pH-Werte	172
2.) Kochsalz	173
3.) Natriumacetat	174
4.) Natriumdiacetat	174
5.) Kombination Kochsalz/pH	175
6.) Kombination Kochsalz/Natriumacetat	176
7.) Kombination Kochsalz/Natriumdiacetat	176
8.) Kombination Kochsalz/Natriumacetat/ pH 5,5 und 6,0	177
9.) Kombination Kochsalz/Natriumdiacetat/ pH 5,5 und 6,0	177
E <u>Schlußfolgerung</u>	178
F <u>Zusammenfassung</u>	179
G <u>Literaturverzeichnis</u>	181

A Einleitung

Aerobe Sporenbildner sind in der Natur weit verbreitet. Sie werden in faulendem Material und an Pflanzen (BREED et al. 1957), in den Faeces von Menschen (MÄRZENDÖRFER 1954, BOESE 1955, HAENEL et al. 1965) und Tieren (SUERMANN 1937, MÄRZENDÖRFER 1954, WILSSENS und BUTTIAUX 1958, PESTI 1963, MAKI und PICARD 1965), auf der Körperoberfläche der Schlachttiere (BARTELS und KLEMM 1962), in Schwarten (EBELING 1958) und in Därmen (WESTPHAL 1943, INAL 1965) - besonders bei unsachgemäßem Entschleimen (LERCHE 1952) - gefunden. Aerobe Sporenbildner gelangen in Fleisch und Fleischerzeugnisse hauptsächlich durch mangelhafte Schlachthygiene (BARTELS 1952, BARTELS und KLEMM 1962, BENKEN 1962, KLEIN 1968) und durch naturbelassene, als stark keimhaltig anzusehende Gewürze (HOBGING 1935, HILLE 1937, FABIAN et al. 1939, YESAIR und WILLIAMS 1942, HÜTTMANN 1954, CORETTI 1955, 1957; WALZ 1956, KAMMER 1961). Fast alle aus Fleischprodukten isolierten Stämme besitzen starke proteolytische Eigenschaften (HECKEL 1956, WALZ 1957, KRAUS 1959, KAMMER 1961) und können zum Verderb von Lebensmitteln führen, der sich z.B. äußert in Laketrübung, Bombage und Erweichung von Dosenwürsten (SCHÖNBERG 1953, SCHÖNBERG und WALZ 1958, SUMMERMATTER 1958, KRAUS 1959, ZELLER 1963, POPOVIC 1965), in Verderben von anderen eingedosten Fleischwaren (SCHÖNBERG und WALZ 1958, Ristić et al. 1967), in Erweichung von Kochwürsten (BOESE 1955, WALZ 1957), und in Fehlfabrikaten bei der Rohwurstherstellung (SCHÖNBERG 1953, BOESE 1955, WALZ 1955, 1957). Lipolytische Eigenschaften sind unterschiedlich stark ausgebildet, nach SCHWARZ und CIBLIS 1965 hat sich *Bac. cereus* als starker Fettzersetzer erwiesen.

Beim Menschen können saprophytische Keime der Gattung *Bacillus* verschiedene Krankheitsbilder hervorrufen: 1.) Augeninfektionen durch *Bac. sphaericus*, *Bac. subtilis* (OESTERLE 1952, BOESE 1955, WILSON und MILES 1961). 2.) Septikämien durch *Bac. cereus* (BOESE 1955, COX et al. 1959, WILSON und MILES 1961, WILDFÜHR 1964). 3.) Toxisch bedingte Magen-Darmentzündungen (sogenannte

unspezifische Lebensmittelvergiftungen) durch *Bac. cereus* (MOSSEL 1956, NIKODÉMUSZ 1958, 1961, NIKODÉMUSZ und CSABA 1959, NIKODÉMUSZ und BOUQUET 1961, BENTLER 1963, KISS 1963, SEIDEL und SCHULZ 1963), durch *Bac. sphaericus* (KNIEWALLNER 1962, ELTER 1966), *Bac. laterosporus* und *Bac. alvei* (NIKODÉMUSZ und CSABA 1959), *Bac. pantothenicus*, *Bac. subtilis* und *Bac. megaterium* (SEIDEL und SCHULZ 1963).

Unter Berücksichtigung der oben erwähnten Bedeutung der Gattung *Bazillus* für die Lebensmittel - insbesondere für das Lebensmittel Fleisch - und für die menschliche Gesundheit muß es ein Ziel der Lebensmittelhygiene sein, durch wirksame Maßnahmen auf eine möglichst keimarme Gewinnung der Lebensmittel hinzuarbeiten. Darüberhinaus sollte mit Hilfe gezielter technologischer Maßnahmen versucht werden, das Wachstum von trotzdem in das Lebensmittel gelangten Bazillen einzuschränken, wenn nicht gar auszuschließen. Trotz der bisher gebräuchlichen technologischen Einflüsse, denen die Keime bei der Fleischwarenherstellung ausgesetzt sind (wie Kühlen, Räuchern, Erhitzen, Salzen), gelingt es wegen der Widerstandsfähigkeit dieser Keime und besonders ihrer Dauerformen (Sporen) nicht regelmäßig, bazillenfreie vom Tier stammende Lebensmittel herzustellen.

Es ist jedoch bekannt, daß durch Maßnahmen, wie pH-Wert-Erniedrigung und Zusatz von Salzen, ein Einfluß auf aerobe Sporenbildner ausgeübt werden kann, der sich zumindest in einer Wachstumsunterdrückung zeigt.

Mir wurde daher im Rahmen der Bearbeitung des Fragenkomplexes im Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde der Justus-Liebig-Universität in Gießen von Herrn Prof. Dr. Bartels die Aufgabe gestellt, anhand eingehender Literaturstudien eine Übersicht über Untersuchungen anzufertigen, die sich mit dem Einfluß des pH-Wertes, technologischer Hilfsstoffe und technologischer Maßnahmen auf aerobe Sporenbildner befaßten. Danach sollte in systematischen Untersuchungen zunächst der Einfluß von verschiedenen pH-Werten und verschiedenen Konzentrationen

von Kochsalz, Natriumacetat und Natriumdiacetat in der Einzelwirkung und in Kombinationen auf die Auskeimungs- und Vermehrungsfähigkeit von Sporen dreier Bazillus-Arten untersucht werden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sollten bezüglich der Wirkungen der geprüften Komponenten und des Verhaltens der Mikroorganismen gegenüber diesen Komponenten sowie unter fleischtechnologischen und fleischhygienischen Gesichtspunkten ausgewertet werden.

einer Species teilweise mit dem einer anderen nahe verwandten Art übereinstimmen kann, sollten diese Muster doch so spezifisch sein, daß nicht Kulturen einer Species - spontan oder künstlich induziert - sich in eine andere Species verwandeln können. Die Autoren beschrieben in ihrer Monographie einen Differenzierungsschlüssel, der auf einem solchen stabilen Specieskonzept beruht. Diese Arbeit wurde die Grundlage für spätere Arbeiten über die Differenzierung aerober Sporenbildner (IYER und BHAT 1955, BURDON 1956, KELCH 1961, KUNDRAT 1963).

Differenzierungen sind möglich aufgrund morphologischer und biochemischer Eigenschaften der Mikroorganismen.

1.) Morphologische Eigenschaften

Starke Variationen finden sich vor allem in der makroskopischen Morphologie der aeroben Sporenbildner, deshalb kann die Kolonieform nur in wenigen Fällen zu einer praktisch verwertbaren Diagnose führen (KUNDRAT 1963).

Nach SMITH et al. 1952 ist jedoch eine Einteilung in Gruppen aufgrund der mikroskopischen Morphologie dieser Mikroorganismen möglich mit folgenden Merkmalen:

Gruppe 1: Sporangia nicht deutlich aufgetrieben, Sporen ellipsoid bis zylindrisch, zentral bis terminal. Sporenwände dünn und schwer färbbar, Grampositiv.

Gruppe 1 a: Protoplasma junger, auf Glucose-Agar gewachsener Zellen bei schwacher Färbung mit Vakuolen. Durchmesser vegetativer Stäbchen 0,9 μ oder mehr.

Gruppe 1 b: Protoplasma junger, auf Glucose-Agar gewachsener Zellen bei schwacher Färbung ohne Vakuolen. Durchmesser vegetativer Stäbchen weniger als 0,9 μ .

Gruppe 2: Sporangia deutlich aufgetrieben, Sporen ellipsoid, selten zylindrisch, zentral bis terminal. Sporenwände dick und leicht färbbar. Reste der Sporangien manchmal anhängend, Gramvariabel.

Gruppe 3: Sporangia deutlich aufgetrieben. Sporen rund oder fast rund, Gramvariabel.

65 % der von SMITH et al. 1952 differenzierten 1 114 Stämme entfielen auf die Gruppe 1, die Gruppe 2 umfaßte 30 % der Stämme, während die Gruppe 3 mit 5 % die kleinste war.

2.) Biochemische Eigenschaften

Neben den morphologischen Merkmalen werden als Differenzierungscharakteristikum Wachstums- und Fermentierungsfähigkeiten unter verschiedenen Bedingungen herangezogen. Hierfür haben SMITH et al. 1952 die grundlegenden Arbeiten geleistet. Ihr Bestimmungsschlüssel wurde in Bergey's Manual of Determinative Bacteriology aufgenommen. Danach werden folgende Merkmale geprüft: Gelatineverflüssigung in der Stichkultur, Hydrolyse von Stärke, Casein, Gelatine, Lecithin und Harnstoff, Verhalten in Milch (Peptonisierung, Säuerung, Alkalisierung, Koagulation, Kahmhautbildung), Bildung von Acetylmethylcarbinol (Voges-Proskauer-Reaktion), Nutzung von Citrat als einzigem Kohlenstofflieferanten, Resistenz gegenüber Kochsalz, Wachstum auf tyrosinhaltigem Nährboden zur Feststellung von Pigmentierungen, Bildung von Indol und kristallinem Dextrin, Reduktion von Nitrat zu Nitrit, anaerobe Produktion von Gas aus Nitrat, anaerobes Wachstum in Glucose-Bouillon, Reduktion von Methyleneblau, Säuerung von Glucose-Bouillon, Fermentierung verschiedener Zucker und Alkohole. Der letztgenannte Test (Fermentierung von Zucker und Alkoholen) ist in seiner Beurteilung nach Angaben von SMITH et al. 1952 sehr problematisch, er hat zwar eine taxonomische Bedeutung, muß jedoch in seiner Aussagekraft sehr großzügig beurteilt werden.

Daneben wurde von diesen Autoren das Wachstumsvermögen bei verschiedenen Temperaturen und Sauerstoffangeboten zur Differenzierung herangezogen.

Zusätzlich zu diesen Tests führte KUNDRAT 1963 den Arginase-nachweis und die Prüfung der Sulfonamidresistenz mit Debenal-Bayer und INIGT und PROOM 1950 eine Prüfung der Nährstoffbe-

dingungen ein.

Für die Differenzierung der einzelnen Bazillus-Species werden in der Regel nicht alle oben angeführten Tests benötigt. KUNDRAT 1963 hat deshalb einen vereinfachten Untersuchungsgang aufgestellt unter Verwendung derjenigen Reaktionen, die eine möglichst eindeutige Aussagekraft haben. Nach der Katalaseprobe und Einteilung in die von SMITH et al. 1952 aufgestellten Gruppen nach der mikroskopischen Morphologie wurden für die einzelnen Gruppen folgende Reaktionen geprüft:

Gruppe 1 a: Argininhydrolyse, Voges-Proskauer-Reaktion, Citratvergärung, anaerobes Wachstum in Glucose-Bouillon und Wachstum bei 7 und 10 % Kochsalz.

Gruppe 1 b: Hydrolyse von Stärke, Gelatine und Arginin, Vergärung von Citrat, anaerobes Wachstum in Glucose-Bouillon und Wachstum bei 56°C.

Gruppe 2: Hydrolyse von Stärke und Arginin, Voges-Proskauer-Reaktion, anaerobes Wachstum und Gasbildung in Glucosebouillon, Wachstum bei 7 % NaCl und bei 65°C, Hemmung durch Sulfonamid.

Gruppe 3: Hydrolyse von Stärke und Arginin.

III. Rechtsvorschriften über die Verwendung von Hilfsstoffen in der Fleischtechnologie

Nach dem Gesetz über den Verkehr mit Lebensmitteln und Bedarfsgegenständen (Lebensmittelgesetz) in der gültigen Fassung (W.N. 1968) ist der Zusatz von fremden Stoffen bei der Gewinnung, Herstellung oder Zubereitung von Lebensmitteln nur dann erlaubt, wenn diese Zusatzstoffe hierfür ausdrücklich zugelassen sind (§ 4 a Abs. 1). Als fremde Stoffe gelten hier Stoffe, die nach § 1 des Gesetzes zu Lebensmitteln werden und keinen Gehalt an verdaulichen Kohlenhydraten, verdaulichen Fetten, verdaulichem Eiweiß oder keinen natürlichen Gehalt an Vitaminen, Provitaminen, Geruchs- oder Geschmacksstoffen haben oder bei denen ein solcher Gehalt nicht dafür maßgebend ist, daß sie als Lebens-

mittel verwendet werden (§ 4 a Abs. 2). Fremde Stoffe, die bei der Gewinnung, Herstellung oder Zubereitung von bestimmten Fleisch und Fleischerzeugnissen erlaubt sind, werden in der Verordnung über Fleisch und Fleischerzeugnisse (Fleisch-Verordnung, N.N. 1969) aufgeführt. Die Verwendung von Nitrit wird in dem Gesetz über die Verwendung salpetrigsaurer Salze im Lebensmittelverkehr (Nitritgesetz, N.N. 1934) gesondert geregelt.

In der Fleischverordnung ist für die im Rahmen dieser Arbeit besprochenen Hilfsstoffe Folgendes vorgeschrieben: die Verwendung von Salpeter (Natrium- und Kaliumverbindungen der Salpetersäure) zum Pökeln oder Röten von Fleisch und Fleischerzeugnissen, ausgenommen frische Bratwurst, ist erlaubt, wobei die höchstzulässige Menge bei Natriumnitrat auf 0,05 % (bezogen auf die verwendete Fleisch- und Fettmenge) und bei Kaliumnitrat auf 0,06 % beschränkt ist.

Natriumverbindungen der Zitronensäure und Verbindungen der Vitamine C und E mit Essigsäure dürfen als Schutzmittel gegen das Ranzigwerden tierischer Fette verwendet werden. Natrium- und Kalziumverbindungen der Essigsäure, Milchsäure, Weinsäure und Zitronensäure dürfen zur Herstellung von Sülzen und zur Behandlung von Därmen verwendet werden. Natriumverbindungen der Essigsäure, Milchsäure, Weinsäure und Zitronensäure sind erlaubt als Kutterhilfsmittel bei der Herstellung von Brühwurst aus nicht schlachtwarmem Fleisch, wobei der Zusatz dieser Stoffe oder ihrer Vermischungen nicht mehr als 0,3 % (bezogen auf die verwendete Fleisch- und Fettmenge) betragen und der pH-Wert dieser Stoffe oder ihrer Vermischungen 7,3 (gemessen in einer 0,5 %igen wäßrigen Lösung) nicht übersteigen darf. Natriumverbindungen der Zitronensäure sind ferner erlaubt zur Verhinderung der Gerinnung des Blutes von Rindern und Schweinen in der Höchstmenge von 16 g pro Liter Blut.

Die oben aufgeführten Verbindungen der Essigsäure und Zitronensäure dürfen auch anderen Lebensmitteln zugesetzt werden, soweit diese Lebensmittel zur Gewinnung, Herstellung oder Zube-

reitung der Lebensmittel bestimmt sind, denen diese fremden Stoffe zugesetzt werden dürfen. Diese fremden Stoffe müssen bestimmten, in der Anlage zur Fleisch-Verordnung angeführten oder im Deutschen Arzneibuch festgesetzten Reinheitsanforderungen entsprechen. Außerdem besteht - abweichend von § 5 a Abs. 2 des Lebensmittelgesetzes - für diese Zusatzstoffe keine Kenntlichmachungsverpflichtung. Als Kutterhilfsmittel dürfen außer den oben erwähnten fremden Stoffen noch die Natrium- und Kaliumverbindungen der Diphosphorsäure (Pyrophosphorsäure), auch in Vermischung untereinander, in einer Menge von 0,3 % (bezogen auf die verwendete Fleisch- und Fettmenge) bei der Herstellung von Brühwurst aus nicht schlachtwarmem Fleisch verwendet werden. Der pH-Wert dieser Stoffe darf 7,3 (gemessen in einer 0,5 %igen wäßrigen Lösung) nicht übersteigen, ferner müssen die in der Anlage festgelegten Reinheitsforderungen erfüllt werden. Von Bedeutung ist ferner die Vorschrift, daß die Natrium- und Kaliumverbindungen der Diphosphorsäure nicht mit anderen Kutterhilfsmitteln zusammen verwendet werden dürfen und ferner der Zusatz dieser Diphosphorsäureverbindung der Deklarationspflicht unterliegt.

Für die Verwendung salpetrigsaurer Salze (Nitrite) gilt nach dem Nitritgesetz Folgendes:

Grundsätzlich ist jedes Inverkehrbringen von salpetrigsauren Salzen verboten, Ausnahmen sind in den §§ 2 und 6 festgelegt. Danach darf salpetrigsaurer Nitrit verwendet werden zur Herstellung von Nitritpökelsalz. Dieses Nitritpökelsalz muß ausschließlich aus Speisesalz und salpetrigsaurem Natrium (Natriumnitrit) bestehen, wobei ein gleichmäßiges Gemisch mit höchstens 0,6 % und mindestens 0,5 % salpetrigsaurem Natrium vorgeschrieben wird. Nitritpökelsalz darf nur bei der Zubereitung von Fleisch sowie von Fleisch- und Wurstwaren (mit Ausnahme von zerkleinertem frischem Fleisch) verwendet werden. Eine gleichzeitige Verwendung von Salpeter neben Nitritpökelsalz ist nur bei Fleisch in großen Stücken erlaubt, wobei jedoch höchstens 1 kg Salpeter auf 100 kg Nitritpökelsalz kommen darf.

IV. Die Auswirkung der Wasserstoffionenkonzentration auf aerobe Sporenbildner

Über die Auswirkungen verschiedener Wasserstoffionenkonzentrationen auf verschiedene Eigenschaften aerober Sporenbildner liegen eine Reihe von Untersuchungen vor und zwar über a) Beeinflussung des Wachstums; b) Beeinflussung der Hitze-resistenz und c) Beeinflussung anderer Eigenschaften wie Morphologie und Beweglichkeit.

Bei der nachfolgenden Literaturübersicht wurden Einflüsse auf aerobe Sporenbildner durch pH-Werte, die mit Hilfe von Essig-, Zitronen- oder Milchsäure eingestellt wurden, ausgeklammert. Sie werden in den Abschnitten V 2.), 3.) und 4.) gesondert besprochen.

a) Wirkungsweise des pH-Wertes auf Mikroorganismen

Überleben und Wachstum von Mikroorganismen ist nur innerhalb eines bestimmten pH-Bereiches möglich, das Gleiche gilt auch für Fähigkeiten wie Beweglichkeit, Fermentationsvermögen und anderen Metabolismus, wobei die pH-Bereiche für Überleben und andere Fähigkeiten erheblich differieren können (INGRAM et al. 1956).

Diese pH-Bereiche sind für die verschiedenen Bakteriengattungen und hier wieder für die einzelnen Arten unterschiedlich. Allgemein kann jedoch gesagt werden, daß die meisten Bakterien über einen pH-Bereich von 4,5 bis 8,5 mit einem Optimum zwischen 6,5 und 7,5 wachsen (INGRAM et al. 1956).

Dagegen vertritt KOLTHOFF 1925 nach einem Literaturstudium die Auffassung, daß nicht die Wasserstoffionen das Bakterienwachstum hemmen, sondern die ungespaltenen Säuren, die von den Mikroorganismen während ihres Wachstums gebildet werden. Seiner Meinung nach kann deshalb nicht davon gesprochen werden, daß das Wachstum der Bakterien aufhört, wenn ein bestimmter pH-Wert erreicht ist. Diese Schlußfolgerung könnte nur dann gezogen werden, wenn jeder Untersucher mit Nährmedien der gleichen Pufferkapazität arbeiten würde.

Nach HEWITT 1957 ist der Einfluß des pH-Wertes auf Bakterien größtenteils indirekt, wobei ungünstige pH-Bedingungen zuerst bakteriostatisch und nicht bakterizid wirken, jedoch kann anschließend - wenn normaler Metabolismus und Vermehrung aufhören - der Tod durch die Aktivität der zelleigenen Autolyse-Systeme eintreten.

Nach der Literaturübersicht von FABIAN und WINSLOW 1929 wurde in zahlreichen Untersuchungen festgestellt, daß schwache Zunahmen oder Abnahmen der Wasserstoffionenkonzentration an den Grenzen des pH-Optimums deutliche Einflüsse auf die Lebensfähigkeit von Bakterien ausübten, wobei die Bakterienzellen durch Freisetzung saurer bzw. basischer Substanzen diese Einflüsse zu neutralisieren suchten.

b) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch verschiedene Wasserstoffionenkonzentrationen

Um eine kurze Übersicht über die pH-Bereiche, in denen das Wachstum aerober Sporenbildner vollständig gehemmt wurde, zu ermöglichen, wurden die Ergebnisse der nachstehend ausführlicher referierten Arbeiten in Tabelle 1 zusammengefaßt. Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß bei Einstellung des pH-Wertes der Medien mit Salzsäure oder nicht angegebenen Säuren zur Erreichung einer vollständigen Wachstumshemmung von den einzelnen Autoren pH-Werte von 5,5 und niedriger bis "weniger als 3,9" auf der sauren Seite und pH-Werte von mehr als pH 8,0 bis "mehr als 9,2" auf der alkalischen Seite angegeben wurden. Die Angaben für die verschiedenen untersuchten Species können der Tabelle 1 entnommen werden. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Arten Unterschiede in der pH-Empfindlichkeit zeigen. Einschränkend muß jedoch gesagt werden, daß die pH-Werte Arbeiten entnommen wurden, die nach unterschiedlichen Gesichtspunkten und unterschiedlicher Methodik durchgeführt wurden.

Nach dieser auswertenden Darstellung werden die Arbeiten der Autoren im Einzelnen referiert.

Nach WILLIAMS 1929 wächst *Bac. subtilis* bei pH-Werten zwischen 4,6 und 9,2, wobei das Wachstumsoptimum zwischen pH 7,4 bis 8,2 liegen soll.

Tabelle 1:

Zusammenstellung der Literaturangaben über die pH-Werte, bei denen das Wachstum aerober Sporenbildner vollständig gehemmt wurde.

Species	nicht differenzierte Bazillen	Mesentericus-Subtilis-Gruppe	Bac. cereus	Bac. licheniformis	Bac. subtilis	Bac. pumilus	Bac. coagulans	Bac. badius	Bac. lentus	Bac. stearothermophilus	Bac. brevis	Bac. pasteurianus
Autor												
				HCl oder nicht angegeben								
Williams 1929					<4,6 >9,2							
Berry 1933							<4,0 >8,0					
Murdock 1950	4,0											
Ingram et al. 1956					<4,5							
Barth 1960	<3,9					4,9						
Kelch 1961										5,5		5,5
Hill und Fields 1967										5,0 9,0		
Scheibner 1967	4,5		4,5	4,5	4,5			4,5	4,5		5,0	
Essigsäure												
Levine und Fellers 1939		4,9	4,9									
Erickson und Fabian 1942	4,6						4,5					
Fabian und Graham 1953	<5,0											
Boese 1955		4,57										
Lochmann 1955		4,6										
Enders 1957		4,8										
Walz 1957	<5,0											
Zitronensäure												
Erickson und Fabian 1942	4,52						4,48					
Murdock 1950	4,8											
Milchsäure												
Erickson und Fabian 1942	4,34						4,34					
Fabian und Graham 1953	<5,5											
Ingram et al. 1956	4,5											
Bengs und Scheibner 1969				5,5	4,5 4,5							

BERRY 1933 beobachtete starkes Wachstum von *Bac. thermoacidurans* (= *Bac. coagulans*) bei pH-Werten von 4,0 bis 8,0, gelegentlich auch schwaches Wachstum bei pH 3,0 und 9,0.

Die Reaktion des Nährmediums ist nach FABIAN und BRYAN 1933 für die Sporogenese wie für alle physiologischen Prozesse von Bedeutung. Die Autoren untersuchten den Einfluß des pH-Wertes in einem Medium mit Kochsalz in 0,25 molarer Konzentration, das sich als günstig für Wachstum und Sporogenese erwiesen hatte. Als Teststämme wurden *Bac. cereus*, *Bac. subtilis*, "*Bac. mesentericus*" und *Bac. megaterium* als 12 Stunden alte Kultur (nur vegetatives Wachstum) benutzt. Die untersuchten pH-Bereiche lagen zwischen 5,0 und 7,5. Es zeigte sich, daß der Unterschied zwischen den Teststämmen nur gering war. Außerdem zeigten die Ergebnisse, daß bei den Stämmen in einem weiten pH-Bereich kein Einfluß auf die Sporenbildung auftrat.

MURDOCK 1950 führte Untersuchungen durch über die Wirkung verschiedener pH-Werte auf das Auskeimen von 3 Stämmen aerober Sporenbildner, die aus Tomatensaft isoliert worden waren. Das Nährmedium wurde mit Salzsäure, Zitronensäure oder Malonsäure auf pH-Werte zwischen 4,0 und 5,0 eingestellt, in Platten ausgegossen und mit standardisierten Sporensuspensionen inokuliert. Das Wachstum wurde durch Auszählen der gewachsenen Kolonien nach 5tägiger Bebrütung bei 30°C (1 Stamm) oder bei 55°C (2 Stämme) bestimmt. Bei Einstellung des pH-Wertes mit Salzsäure zeigte sich, daß eine Reduktion des pH-Wertes die Zahl der auskeimenden Mikroorganismen herabsetzte, wobei jedoch eine vollständige Hemmung erst bei einem pH-Wert von 4,0 erreicht wurde.

RICE und PEDERSON 1954 untersuchten den Einfluß verschiedener Faktoren auf das Wachstum von *Bac. coagulans* in Tomatensaft. Sie stellten Sporensuspensionen von einer Dichte von 10^6 und 10^5 Sporen/ml her und inokulierten damit Tomatensaft, der vor der Sterilisation auf verschiedene pH-Werte mit Hilfe von Natronlauge oder Salzsäure eingestellt worden war. Wachstumsbestimmung erfolgte durch Feststellung von pH-Wert-Änderungen

und durch mikroskopische Untersuchung des Tomatensaftes. Nicht eingestellter Tomatensaft hatte pH-Werte zwischen 4,10 und 4,32. Eine weitere Erniedrigung des pH-Wertes führte zu einer Wachstumsabnahme. Aus ihren Untersuchungen folgerten die Autoren, daß der pH-Wert der Faktor des Saftes war, der den größten Einfluß auf das Wachstum von *Bac. coagulans* ausübte.

Nach INGRAM et al. 1956 kann das Fadenziehen des Brotes - verursacht durch *Bac. subtilis* - verhindert werden, wenn der pH-Wert niedriger als 4,5 ist.

BARTH 1960 untersuchte den Einfluß des pH-Wertes auf die Bakterienflora des Rohwurstbrätes in Modellversuchen, wobei er 29 Reinkulturen verschiedener Keimarten, darunter auch 5 aerobe Sporenbildner, als Teststämme verwendete. Aus 18 Stunden bei 30°C bebrüteten Bouillonkulturen wurden stets 6 Tropfen in andere Reagenzgläser mit Nährbouillon, deren pH-Werte zwischen 3,9 und 7,0 betrugen, übertragen. Aus diesen Reagenzgläsern wurde nach Ablauf der Bebrütungszeit (18 Stunden bei 30°C) Material entnommen, auf Nähragarplatten ausgestrichen und 2 bis 3 Tage bei 30°C oder 37°C bebrütet. Das dann aufgetretene Wachstum wurde als +++ (stark), ++ (mittelgradig), + (gering, d.h. 6 bis 15 Kolonien), + (1 bis 5 Kolonien) und - beurteilt. Nach diesen Versuchen konnten niedrige pH-Werte um 3,9 vier der fünf Stämme aerober Sporenbildner nicht an ihrem Gedeihen hindern, wenn auch ab pH 4,9 eine deutliche Verminderung der Anzahl der Kolonien auf den Nähragarplatten erkennbar war. *Bac. pumilis* stellte bei pH 4,9 das Wachstum ein; eine Wachstumsbeschränkung machte sich bei diesem Stamm schon ab pH 5,3 bemerkbar.

EVANS und CURRAN 1960 führten Untersuchungen durch über die Lebensfähigkeit von Bakteriensporen, die über längere Zeit in Puffersubstraten mit pH-Werten von 4,0 - 5,0 - 6,0 und 8,0 bei Temperaturen von 0°C, 30°C oder 37°C gelagert worden waren. Von den Teststämmen *Bac. subtilis*, *Bac. brevis*, *Bac. macerans*, *Bac. stearothermophilus* und 2 Clostridien-Species wurden Sporensuspensionen hergestellt, die entweder unerhitzt oder nach Er-

hitzung auf 85°C (15 Minuten) oder auf 100°C (10 Minuten) in den Puffersubstraten bei den verschiedenen Temperaturen verblieben. Vor und nach der Erhitzung sowie während der Aufbewahrung wurden Keimzählungen jeder Pufferprobe durchgeführt. Für die Teststämme aerober Sporenbildner wurde Folgendes festgestellt:

Bac. macerans: fortschreitender, wenn auch mäßiger Abfall der Lebensfähigkeit der Sporen während einer Lagerungsperiode über 3 Jahre bei 30°C. Ein schnellerer Verlust der Lebensfähigkeit trat bei pH 5,0 gegenüber pH 6,0 und 8,0 auf, wobei dieser Vorgang durch Vorerhitzen beschleunigt wurde. *Bac. brevis*: Sporen, die in einem Substrat mit einem pH-Wert von 8,0 aufbewahrt worden waren, blieben lebensfähig unabhängig von der Erhitzung vor der Lagerung. Bei einem pH-Wert von 6,0 trat ohne vorherige Erhitzung eine ziemlich schnelle und fast vollständige Zerstörung der Sporen ein, mit vorheriger Erhitzung nahm die Lebensfähigkeit der Sporen dagegen weniger schnell ab als bei pH 5,0, hier nahm die Sporenmortalität durch vorhergehende Erhitzung hochgradig zu. *Bac. stearothermophilus* behielt ebenfalls bei pH 8,0 Lebensfähigkeit unabhängig von Inkubationstemperatur und vorhergehender Erhitzung. Bei 37°C nahm bei pH 6,0 die Lebensfähigkeit langsam, bei pH 5,0 schneller ab und erreichte einen gleichbleibenden niedrigen Stand an lebensfähigen Sporen. Bei anderen Lagerungstemperaturen wurde nicht ein so niedriger Stand erreicht. Bei *Bac. subtilis* verursachte das Vorerhitzen der Sporen in sauren Medien bei 37°C und 30°C einen schnellen Verlust der Lebensfähigkeit. Abweichend von den anderen Species bestand auch bei pH 8,0 bei 30°C und 37°C eine kontinuierliche Abnahme der Anzahl lebensfähiger Keime.

Die Autoren vermuteten daß durch Hitze gewisse Enzyme aktiviert würden, was zu einer Verkürzung der Überlebensdauer führte. Auch Temperaturen von 37°C aktivierten die Sporen. Sie hielten die Abfallsrate charakteristisch für eine Funktion von pH und Temperatur.

KELCH 1961 untersuchte das Wachstum aerober Sporenbildner bei

pH-Werten von 7,4; 6,5 und 5,5 und beschrieb das Wachstum der 6 untersuchten Species folgendermaßen (in Klammern die Anzahl der untersuchten Stämme):

Bac. licheniformis (20 Stämme): pH 7,4: mäßig bis gut, pH 6,5: gut, pH 5,5: gering bis gut.

Bac. coagulans (7 Stämme): pH 7,4: gering bis gut; pH 6,5: gut, pH 5,5: mäßig bis gut.

Bac. pantothenicus (7 Stämme): pH 7,4: gut, pH 6,5: gut, pH 5,5: negativ.

Bac. stearothermophilus: pH 7,4: gut, pH 6,5: mäßig bis gut, pH 5,5: negativ.

Bac. laterosporus (5 Stämme): pH 7,4: gut, pH 6,5: mäßig bis gut, pH 5,5: negativ bis mäßig.

Bac. subtilis (3 Stämme): pH 7,4: gut, pH 6,5: gut, pH 5,5 mäßig bis gut.

90 % der von RIEMANN 1963 aus Fleischwarenkonserven isolierten Bacillus-Stämme, überwiegend zu den Species Bac. licheniformis, Bac. cereus und Bac. subtilis gehörend, wurden bei einem pH-Wert von 5,0 nicht in ihrem Wachstum gehemmt. HILL und FIELDS 1967 untersuchten den Einfluß von verschiedenen pH-Werten auf Wachstum und Wechselwirkung von "rough"- und "smooth"-Varianten von Bac. stearothermophilus. Dazu wurde Nährbouillon mit Hilfe von 1 n NaOH oder HCl auf pH-Werte zwischen 5,0 und 9,0 eingestellt. Je 30 ml Nährmedium wurden mit 0,05 ml von Zellsuspensionen der beiden Varianten inokuliert und bei 55°C bebrütet. Wachstumsfeststellung erfolgte durch Bestimmung der Absorption mittels eines Spectrophotometers. Die Autoren fanden, daß beide Varianten bei pH 5,0 und 9,0 nicht mehr wuchsen. Bei der "rough"-Variante betrug die Zunahme der lag-Zeit bei pH 6,0 und 8,0 gegenüber 7,0 nur 3 Stunden. Dagegen nahm die lag-Zeit beider "smooth"-Varianten bei pH 6,0 um 37 Stunden und bei pH 8,0 um 47 Stunden gegenüber pH 7,0 zu.

SCHEIBNER 1967 untersuchte 45 Stämme aerober Sporenbildner (Bac. cereus, Bac. licheniformis, Bac. subtilis, Bac. subtilis var. atterrimus, Bac. coagulans, Bac. firmus, Bac. brevis und

14 nicht einzuordnende Stämme) auf ihr Wachstumsvermögen bei niedrigen pH-Werten. Dazu wurden Nähragar und Nährbouillon auf pH-Werte zwischen 4,5 und 6,0 eingestellt, mit einer Ose voll aus Sporensuspensionen beimpft und 8 Tage bei 28°C bebrütet. Er fand, daß alle Stämme gutes Wachstum bei pH 6,0 und pH 5,5 zeigten, dagegen wuchsen fast alle Teststämme bei pH 5,0 nur noch verzögert und spärlich, 1 Bac. brevis-Stamm und 1 Bac. subtilis-Variante wuchsen bei diesem pH-Wert nicht mehr. Bei einem pH-Wert von 4,5 trat bei allen Teststämmen kein Wachstum mehr auf.

c) Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch verschiedene Wasserstoffionenkonzentrationen

BERRY 1933 errechnete den F-Wert einer Sporensuspension von Bac. thermoacidurans (= Bac. coagulans), wobei die Sporenkonzentration in den Medien 10 Millionen Sporen/ml betrug. Danach ergab sich für die Suspension in phosphatgepuffertem Wasser (pH 7,0) ein F-Wert von 3,8 Minuten, in Tomatensaft (pH 4,5) von 0,33 Minuten (Erklärung des F-Wertes siehe Kapitel VII 1).

Nach CURRAN 1952 ist ein Hauptfaktor in bezug auf die Hitzeresistenz von Bakteriensporen die Reaktion des Erhitzungsmediums, wobei der pH-Wert für die maximale Hitzeresistenz mit dem Stamm, dem Medium, dem Erhitzungsgrad und anderen Faktoren variieren kann, gewöhnlich aber nahe dem Neutralpunkt ist. Jedoch kann nach seinen Angaben der pH-Wert der maximalen Hitzetoleranz bei den verschiedenen Species zwischen 5,0 und 8,0 variieren. In stark sauren oder alkalischen Substraten (unter pH 5,0 oder über 10,0) wird die Hitzeresistenz herabgesetzt.

FRANK 1955 benutzte Kondensmilch- und Tomatensaftmedien zur Bestimmung der Hitzeresistenz von Bac. coagulans-Sporen. Die Hitzeresistenz wurde mit Hilfe der Thermoresistometermethode beschrieben. Der Autor konnte zeigen, daß die Hitzeresistenz in Kondensmilch (pH 6,2) größer war als in Tomatensaft (pH 4,4) und daß sie in beiden Medien niedriger war bei dem pH-Wert von 4,3 als bei 6,2.

PUT und WYBINGA 1963 fanden, daß die Hitzeresistenz von *Bac. coagulans*-Sporen größer war bei pH 6,8 als bei pH 6,0. Der D_{110} -Wert dieses als hitzeresistent beschriebenen Keimes betrug in zerkleinertem Spinat (pH 6,2) 0,84 Minuten.

STUMBO 1965 schreibt bei seinen Betrachtungen über Umwelteinflüsse, die während der Zeit des Erhitzens der Sporen wirksam werden, über den Einfluß des pH-Wertes, daß zunehmende Säuerung gewöhnlich die Hitzeresistenz von Bakterien erniedrigt.

Nach FRAZIER 1967 sind Zellen oder Sporen im Allgemeinen am hitzeresistentesten in Substraten, die neutral oder nahezu neutral sind. Eine Zunahme der Acidität oder Alkalinität beschleunigt die Abtötung durch Hitze, jedoch ist seiner Meinung nach ein Wechsel zur sauren Seite wirkungsvoller als eine entsprechende Alkalinitätszunahme.

Den Einfluß des pH-Wertes im Wachstumsmedium auf die Hitzeresistenz der darauf gebildeten Keime untersuchten WILLIAMS 1929 und EL-BISI und ORDAL 1956.

WILLIAMS 1929 stellte das Wachstumsmedium auf pH-Werte zwischen 5,4 und 8,4 ein und prüfte die Hitzeresistenz der darauf gebildeten *Bac. subtilis*-Sporen. Die Sporensuspensionen wurden auf 95°C und 100°C erhitzt und dann zum Nachweis überlebender Sporen nach Abkühlung in ein Brühextraktmedium verbracht. Es zeigte sich nach diesen Untersuchungen, daß pH-Werte zwischen 5,4 und 8,4 ohne Einfluß auf die Hitzeresistenz von *Bac. subtilis*-Sporen waren.

EL-BISI und ORDAL 1956 untersuchten den Einfluß verschiedener Sporulationsbedingungen auf die Hitzeabtötungsrate von 6 *Bac. coagulans* var. *thermoacidurans*-Stämmen. Der Einfluß des pH-Wertes wurde mit Hilfe eines auf pH-Werte von 5,0, 6,0 und 7,0 eingestellten Tomatensaftagars überprüft, wobei die pH-Werte durch Zusatz eines Phosphatpuffers (KH_2PO_4 Konzentration: 1 %) konstant gehalten wurde. Die auf diesem Medium gebildeten Sporen wurden auf 93°C in 1/40 Phosphat-Puffer (pH 7,0) erhitzt.

Die Ergebnisse der Hitzeresistenzprüfung wurden mit statistischen Methoden ausgewertet. Dabei zeigte es sich, daß die Unterschiede in den Hitzeabtötungsraten der Sporen, die bei den drei verschiedenen pH-Werten gebildet worden waren, statistisch insignifikant waren.

d) Beeinflussung anderer Eigenschaften aerober Sporenbildner durch verschiedene Wasserstoffionenkonzentrationen

STEARNS und STEARNS 1933 untersuchten die Wirkung der Reaktion des Mediums auf die Charakteristika von Bakterien. Die Autoren beschrieben in einer Arbeit die Untersuchungen an gramnegativen Keimen und in je einer Arbeit an *Bac. subtilis* und *Bac. cereus*. Sie stellten fest, daß sich bei dem niedrigen pH-Wert von 5,4 eine Variante von *Bac. subtilis* entwickelte, die sich von dem Stamm der bei pH-Wert 7,8 gewachsen war, deutlich unterschied in Kolonieform, Hautbildung auf Nährbouillon, Gramcharakter, Beweglichkeit, Isoelektrischem Punkt und Empfindlichkeit gegenüber Gentianaviolett. Durch Verändern der Kulturbedingungen war es möglich, eine Umkehrung zu dem Originaltyp oder sogar eine Umkehrung des "sauren" Stammes zum "alkalischen" Stamm hervorzurufen. Bei den Untersuchungen an *Bac. cereus* konnte gezeigt werden, daß auch diese Species bei niedrigen pH-Werten Morphologieveränderungen, veränderte Empfindlichkeit gegenüber Gentianaviolett und veränderten Isoelektrischen Punkt aufwies. Bei der Subkultivierung von Bouillonkulturen von pH 5,15 bis 6,0 auf Nähragar mit entsprechenden pH-Werten war auffällig, daß die Kolonien fortschreitend sich vergrößernde aufgenellte Gebiete hervorriefen. Diese Kolonien waren deutlich schillernd und nahmen schließlich eine bronzeähnliche Farbe an.

GOULD 1962 untersuchte den Einfluß des pH-Wertes auf die Auskeimung von Sporen der Species *Bac. cereus*, *Bac. subtilis* var. *aterrimus*, *Bac. subtilis* var. *niger*, *Bac. licheniformis* und 4 nicht differenzierte *Bacillus*-Stämme in Mikrokulturen unter dem Mikroskop. Das Nährmedium (Hefe-Glucose-Agar) wurde durch Zusatz 1 n HCl oder 1 n NaOH auf pH-Werte zwischen 5,55 und

7,95 eingestellt und mit einer Ose aus Sporensuspensionen, die etwa 10^7 Sporen/ml enthielten, beimpft. Eine Einstellung auf pH-Werte unter 5,55 erfolgte nicht, weil bei diesen Werten eine Auskeimung nur langsam und unvollständig erfolgte. Während bei *Bac. licheniformis* keine Unterschiede im Auskeimungsmechanismus bei den verschiedenen pH-Werten beobachtet wurde, zeigten die anderen Stämme Abweichungen bei niedrigen pH-Werten. Bei *Bac. cereus* geschah bei pH 5,55 oder 5,8 das Auskeimen schnell, jedoch waren Wachstum und Vermehrung verzögert. Bei einem nicht differenzierten Stamm war diese pH-Wirkung noch deutlicher. Bei einem anderen Stamm war bei niedrigen pH-Werten der Öffnungsmechanismus der Sporenwand verändert.

V. In der Fleischnotechnologie verwendete Hilfsstoffe in ihrer Auswirkung auf aerobe Sporenbildner

1.) Natriumchlorid

Über die Wirkung von Natriumchlorid auf Mikroorganismen - und hier speziell auf vegetative Formen und Sporen aerober Sporenbildner - liegen eine Reihe von Untersuchungen vor und zwar über die Konzentrationen, die eine Wachstumsstimulierung, -hemmung oder Abtötung hervorrufen, über den Einfluß von Kochsalz auf die Hitzeresistenz dieser Keimgattung und auf biologische Fähigkeiten wie Beweglichkeit, mikroskopische und makroskopische Morphologie, endogene Respiration.

a) Wirkungsweise von Kochsalz auf Mikroorganismen

Über die Art der Beeinflussung von Mikroorganismen durch Kochsalz bestehen verschiedene Ansichten:

So sollen nach der Kationentheorie, die im wesentlichen von WINSLOW und Mitarbeitern ausgebaut wurde (WINSLOW und HAYWOOD 1931, FABIAN und BRYAN 1933, KOLLER 1941), anorganische Salze vorwiegend durch ihre Kationen wirken. Alle Kationen stimulieren danach in geringen Konzentrationen die Lebensfähigkeit

(verbunden mit zunehmender Permeabilität) und hemmen sie in hohen Konzentrationen (verbunden mit abnehmender Permeabilität).

Die quantitativen Unterschiede werden durch den Begriff "spezifische Potenz" erfaßt. Das Phänomen der "spezifischen Potenz" wird dabei mit der Desinfektionstheorie von BANCROFT verglichen, wonach Desinfektion durch Koagulation der Zellkolloide verursacht werden soll, wobei die abnehmende Stabilität dieser Kolloide in den Anfangsstadien der Koagulation mit Stimulierung verbunden ist.

Nach der Plasmolysetheorie wird durch Erhöhung des extracellulären osmotischen Druckes der Bakterienzelle bis zum Druckausgleich Wasser entzogen. Hierbei kommt es zur Plasmolyse der Zellen, wobei jedoch die Kochsalzkonzentration, die diese Wirkung zeigt, mit der Art der Mikroorganismen variiert (KOLLER 1941, FRAZIER 1967). Dagegen schwellen die Bakterienzellen beim Verbringen in verdünnte Lösungen oder Wasser, wobei der extracelluläre osmotische Druck geringer ist und es in der Bakterienzelle durch Wasseraufnahme zum Druckausgleich kommt (Plasmoptysis, INGRAM 1957).

Außer der Plasmolyse- und Kationentheorie gibt es noch andere Ansichten über den Wirkungsmechanismus von Kochsalz.

Nach FRAZIER 1967 hat Kochsalz zusätzlich zu der Plasmolyse noch, auch von ROCKWELL und EBERTZ 1924 beschriebene, weitere Wirkungen: 1.) es dehydriert Lebensmittel, indem es sie austrocknet und die Feuchtigkeit aufnimmt, 2.) es ionisiert, wobei das Chlorion freigesetzt wird, welches schädlich für die Mikroorganismen ist, 3.) es setzt die Sauerstofflöslichkeit in der Feuchtigkeit herab, 4.) es sensibilisiert die Zelle gegen Kohlendioxyd und zeigt, 5.) eine Interferenz mit der Wirkung proteolytischer Enzyme. Die Kochsalzwirkung durch Dehydrierung der Lebensmittel wird auch von KOLLER 1941, SCHOOP 1933, INGRAM und KITCHELL 1967 angenommen, wobei in neueren Arbeiten (INGRAM und KITCHELL 1967, FRAZIER 1967) auf die Er-

niedrigung der Wasseraktivität durch Salzzusatz hingewiesen wird (über Wasseraktivität siehe Kapitel B VI dieser Literaturübersicht).

Nach KOLLER 1941 und INGRAM 1957 wirken Salze allgemein wachstumshemmend durch Enzyminaktivierung.

EISENBERG 1913 verglich Kochsalz und andere Salze in ihrer Wirkung auf Bakterien und kam zu dem Schluß, daß die toxische, entwicklungshemmende Wirkung auf der additiven Wirkung der sie zusammensetzenden Ionen beruhte, wobei nur die Art der Ionen, nicht aber ihre Wertigkeit ausschlaggebend war. Salze, in denen sich die toxische Wirkung der Anionen und Kationen nicht gegenseitig kompensierten, wirkten quellend (Anionen) bzw. entquellend (Kationen), wobei aber nur die toxische Wirkung nach der quellenden Seite hin auffällig war, d.h., daß nur, wenn die Anionenwirkung in Salz stärker war, das Salz toxisch auf das Bakterienwachstum wirkte und die Mikroorganismen gegen andere Einflüsse labiler machte.

DUMESH 1935 folgerte aus seinen Untersuchungen über die Halophilie und Salztoleranz von Bakterien, daß das Wachstum von Mikroorganismen in hochkonzentrierten Salzlösungen nicht von ihrer Adaptation an hohen osmotischen Druck abhängt, denn die Wirkung isotonischer Lösungen verschiedener Salze auf Bakterien ist nicht die gleiche. Vielmehr hängt das Wachstumsvermögen von Mikroorganismen in hochkonzentrierten Salzlösungen von der Toxizität des Salzes und der Adaptationsfähigkeit der Bakterien an das Salz ab.

c) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Kochsalz

Im Beginn der bakteriologischen Ära scheint die keimwidrige Kraft des Kochsalzes überschätzt worden zu sein. PASTEUR sprach dem Kochsalz eine starke Wirkung auf die Fäulniserreger zu. In der Folgezeit galt das Salz als hervorragendes Desinfektionsmittel zur Vernichtung gesundheitsschädlicher Keime, deshalb löste 1881 die Mitteilung Robert Kochs, daß

die desinfizierende Wirkung des Kochsalzes begrenzt sei, Überraschung aus (SCHOOOP 1933, KOLLER 1941). Um eine kurze Übersicht über die Kochsalzkonzentrationen, bei denen das Wachstum aerober Sporenbildner vollständig gehemmt wurde, zu ermöglichen, wurden die Ergebnisse der nachfolgend ausführlicher referierten Arbeiten in Tabelle 2 zusammengefaßt. Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß die Angaben der verschiedenen Autoren darüber zwischen 2 % und mehr als 22 % schwanken und daß auch bei der Hemmwirkung von Kochsalz Speciesunterschiede bestehen. Die Tabelle zeigt außerdem, daß für dieselbe Species teilweise recht unterschiedliche Angaben über die Kochsalzkonzentrationen, die das Wachstum vollständig hemmen, von den verschiedenen Autoren gemacht werden. Einschränkend muß auch hier gesagt werden, daß die Werte der Tabelle 2 Arbeiten entnommen wurden, die nach unterschiedlichen Gesichtspunkten und unterschiedlicher Methodik durchgeführt wurden.

Im Einzelnen führten die Autoren Folgendes aus:

PETTERSON 1900 untersuchte die Frage, bei welchen NaCl-Konzentrationen Wachstum verschiedener Mikroorganismen noch möglich war. Anhand bakteriologischer und chemischer Untersuchungen von zerkleinerten Fischmuskeln und Rindfleisch mit verschiedenen Salzzusätzen und in Nährbouillon mit verschiedenen Salzzusätzen, die mit Reinkulturen verschiedener Mikroorganismen beimpft worden war, ging er dieser Frage nach. Er stellte fest, daß Kochsalz einen Vergleich mit anderen antiseptischen Mitteln, die selbst in verdünnten Lösungen noch wirksam sind, nicht aushält. Kochsalz wirkte nicht auf alle Mikroorganismen in gleicher Weise, am empfindlichsten waren diejenigen, die starke proteolytische Fähigkeiten besaßen. Dabei hörten die Bazillen bei einem Kochsalzgehalt von 10 % auf zu wachsen, einige Arten aerober Sporenbildner vertrugen jedoch Konzentrationen bis zu 12 %, in Bouillonreinkulturen bisweilen 15 %.

Tabelle 2:

Zusammenstellung der Literaturangaben über die Kochsalzkonzentrationen, bei denen das Wachstum aerober Sporenbildner vollständig gehemmt wurde.

Species	nicht differenzierte Bazillen	"Mesentericus-Subtilis-Gruppe"	Bac. megaterium	Bac. cereus	Bac. licheniformis	Bac. subtilis	Bac. pumilus	Bac. coagulans	Bac. badius	Bac. firmus	Bac. lentus	Bac. polymyxa	Bac. macerans	Bac. stearothermophilus	Bac. circulans	Bac. laterosperus	Bac. brevis	Bac. parvithenticus	Bac. sphaericus
Autor																			
Petterson 1900	10 bis 15																		
Fischer 1900						> 9													
Lipman 1909						7.6													
Sammet 1911		> 18																	
Karaffa-Korbitt 1912		> 12, 7 I																	
Horowitz-Wlassowa 1932	> 16			> 16															
Fabian und Graham 1953	1.5 2.5 5.0																		
Schönberg und Walz 1954		15																	
Neemann 1955		2.8 ^{II}																	
Breed et al. 1957								7	7	10	5	5	5		7	5	2		5
Granville und Fievez 1957	> 22 ^{IV}																		
Barth 1960		8-10																	
Kelch 1961					10	> 10		3						5		5		10	
Nikodémusz 1962	8 ^{II}			8 ^{III}															
Kundrat 1963			> 10	> 7	> 7	> 7	> 10	> 10	> 10	> 10	> 10				> 7				
Riemann 1963				> 10	> 10	> 10													
Gould 1964				10-15	10-15	10-15												2.5	
Scheibner 1967	> 10			> 8															
Bengs und Scheibner 1969					12	12													

I bei Zimmertemperatur

II bei 12 - 15 °C

III Sporen

IV nicht alle Stämme wurden bei diesen Konzentrationen gehemmt

FISCHER 1900 zit. nach FALK 1923 stellte fest, daß der Heubazillus (*Bac. subtilis*) in einer 9 % NaCl enthaltenden Infusion noch gutes Wachstum zeigte.

LIPMAN 1909 zit. nach FALK 1923 nahm als Maß für bakterielle Aktivität von *Bac. subtilis* die Ammoniakbildung aus Pepton. Es ergab sich, daß Kochsalz in niedrigen Konzentrationen die NH_3 -Bildung stimulierte, bei 1,3 M Konzentration (= 7,6 %) sie jedoch vollständig verhinderte.

SAMMET berichtete 1911, daß das "*Bakt. mesentericus*" in 10-18 % Kochsalz enthaltenden Fischsalzpräserven nicht abgetötet worden war.

1912 untersuchte KARAFFA-KORBUTT den Einfluß des Kochsalzes auf die Lebenstätigkeit der Bakterien, u.a. auch solcher, die das Verderben der organischen Lebensmittel fördern, folgendermaßen: 1.) Fleisch-Pepton-Bouillon wurde mit verschiedenen Kochsalzkonzentrationen versetzt, beimpft und bei Zimmertemperatur und im Brutschrank mehrere Tage bis einige Wochen lang bebrütet, 2.) statt Bouillon wurde eine 3 %ige Peptonlösung mit verschiedenen Kochsalzmengen versetzt, beimpft und bebrütet. Die Wachstumskontrolle erfolgte bei beiden Medien makroskopisch und mikroskopisch, 3.) wurde aus den Reagenzgläsern, in denen Wachstum nicht feststellbar war, Sediment auf Nährbouillon übertragen zur Feststellung, ob die Keime durch den Einfluß des Kochsalzes ihr Wachstumsvermögen eingebüßt hatten, 4.) wurden Stückchen von sterilem Löschpapier mit Bouillonkulturen getränkt, im Brutschrank getrocknet, einige Zeit in sterile 1 bis 25 % Kochsalzlösungen versenkt und in Bouillon übertragen. Die Untersuchungen ergaben, daß der "*Bac. mesentericus*" noch bei 12 % NaCl bei längerem Bebrüten im Brutschrank wuchs, dagegen hemmten 6 bis 7 % bei Zimmertemperatur das Wachstum. Die Untersuchungen in Bouillon und Peptonlösung erbrachten die gleichen Ergebnisse. Die Wirkung von Salzlösungen auf angetrocknete Mikroorganismen war sehr schwach, sporenhaltige Formen blieben selbst nach einer 4 Monate langen Einwirkung konzentrierter Lösungen bei Zimmertemperaturen wachstumsfähig.

Aus diesen Ergebnissen zog der Verfasser den Schluß, daß das Kochsalz die Fähigkeit, Bakterienwachstum zu hemmen, nur in schwachem Grade besaß; die nichtkonzentrierten Lösungen hatten nur eine schwache bakterizide Wirkung.

Nach den Untersuchungen von BEAUVÉRIE 1916 zeigte *Bac. subtilis* - wenn auch mit gewisser Verzögerung - ein dichtes Wachstum bei 10 % NaCl in dem Nährmedium, dagegen wuchs *Bac. mycoides* (= *Bac. cereus* var. *mycoides*) mit einer Verzögerung von mehreren Tagen nur schwach in einer Bouillon mit 3 % NaCl.

HOROWITZ-WLASSOWA 1931 untersuchte die Kochsalzwirkung auf *Bac. mycoides* (= *Bac. cereus* var. *mycoides*) und auf als *Bac. corrugatus* und *Bac. lacca* bezeichnete Sporenbildner. Diese Keime konnten sich bei Kochsalzkonzentrationen von 10 bis 16 % noch vermehren.

Bei ihren Untersuchungen über den Einfluß von Kochsalz auf Lebensfähigkeit und Sporulation von *Bac. subtilis*, *Bac. cereus*, *Bac. megaterium* und "*Bac. mesentericus*" stellten FABIAN und BRYAN 1933 fest, daß Kochsalz in einer molaren Konzentration von 0,25 (= 1,5 %) Wachstum und Sporenbildung maximal stimulierte. Eine molare Konzentration unter 0,25 bewirkte gegenüber der Kontrolle nur eine geringe Stimulierung, eine Molarität über 0,25 zeigte eine Abnahme der Stimulierung, verursacht durch die Annäherung an die toxische Konzentration von Kochsalz.

FABIAN und GRAHAM 1953 benutzten als Teststämme 5 obligat und fakultativ thermophile, nicht differenzierte aerobe Sporenbildner und prüften den Einfluß von verschiedenen Kochsalzkonzentrationen auf diese Keime folgendermaßen: Dextrose-Trypton-Bouillon wurde nach Zusatz verschiedener Kochsalzmengen in Reagenzgläser abgefüllt und 2 Stunden bei 55°C vorgeheizt. Die Beimpfung der Nährmedien erfolgte mit 1 ml einer Zellsuspension, die nach 48 Stunden langer Bebrütung durch Abschwemmen von Dextrose-Trypton-Agar-Schrägröhrchen gewonnen worden war. Die beimpften Nährmedien wurden im Wasserbad bei + 55°C bebrütet, nach 0, 6, 12, 24, 48 und 96 Stunden langer

Inkubation wurden Keimzählungen nach dem Kochschen Plattenverfahren durchgeführt und logarithmische Wachstumskurven aufgezeichnet. Die Verfasser stellten fest, daß bei einem Stamm schon 1,5 % Kochsalz germicid wirkten, bei einem Stamm erst bei 5 und mehr Prozent eine Keimabtötung auftrat und bei den übrigen 3 Stämmen 2,5 % Kochsalz bakterizide Wirkung zeigten.

BALDENIUS 1954 untersuchte das Verhalten von 5 Bazillenstämmen der "Mesentericus-Subtilis-Gruppe" bei den in der Rohwurstherstellung üblichen Kochsalzkonzentrationen (0,5 bis 3,5 %) und den bei der Herstellung und Aufbewahrung der Rohwürste üblichen Temperaturen (12-14°C, 18-20°C, 22°C, und außerdem bei 37°C). Von einer 24 Stunden bebrüteten Nähragarkultur wurde durch Abschwemmung eine Keimsuspension gewonnen, die auf eine bestimmte Dichte eingestellt wurde. Aus dieser Suspension wurden 2 Osen voll auf Nähragarplatten mit den verschiedenen Kochsalzzusätzen ausgestrichen und das Wachstum bei 14tägiger Bebrütung bei den verschiedenen Temperaturen aufgezeichnet. Es zeigte sich, daß durch Kochsalzkonzentrationen von 2,5-3,5 % das Wachstum der Bazillen der "Mesentericus-Subtilis-Gruppe" nicht wesentlich beeinflußt wurde, dagegen wurde eine deutliche Wachstumshemmung bei den Temperaturen bis 22°C gegenüber 37°C festgestellt.

SCHÖNBERG und WALZ 1954 züchteten aus beißigen Rohwürsten "Mesentericus-Subtilis-Stämme", die sie 18 Stunden bei 37°C in Nährbouillon bebrüteten und dann auf Nähragar mit Kochsalzzusatz zwischen 3 und 15 % ausspatelten. Die Bebrütung erfolgte bei verschiedenen Temperaturen (zwischen 12°C und 37°C) 10 Tage lang. Bei optimalen Temperaturen wurde das Wachstum der Teststämme bei einem Salzgehalt von 3 % nicht oder nur unwesentlich gehemmt. Mit zunehmender Kochsalzkonzentration trat eine mehr oder weniger starke Wachstumsverzögerung bzw. -hemmung ein, jedoch konnte bei Kochsalzkonzentrationen von 10 % und bei 10tägiger Bebrütung keine vollständige Hemmung erzielt werden. Erst bei einer Kochsalzkonzentration von 15 % trat kein Wachstum mehr auf. Bei diesen Versuchen zeigte sich, daß niedrige Temperaturen die Kochsalzwirkung verstärkten.

Auch NEEMANN 1955 untersuchte die Beeinflussung von Bazillen der "Mesentericus-Subtilis-Gruppe" durch verschiedene Kochsalzkonzentrationen bei unterschiedlichen Temperaturen, allerdings nicht in Modellversuchen, sondern in zu Versuchszwecken hergestellten Rohwürsten. Die Beimpfung des Rohwurstbrätes erfolgte durch mit Keimen der "Mesentericus-Subtilis-Gruppe" stark verkeimte Gewürze, die stets in der gleichen Menge zugesetzt wurden. Die Würste wurden mit 2,4-2,8-3,2 und 3,6 %igem Kochsalzgehalt hergestellt und bei 13 bis 14°C, 18 bis 21°C und 24 bis 26°C aufbewahrt. Das Bakterienwachstum wurde am 1., 3., 6. und 12. Tag geprüft mittels Abdruckkulturen auf Nähragar, die 18 Stunden bei 37°C bebrütet wurden und durch bakterioskopische Prüfung von Abdruckpräparaten. Es konnte festgestellt werden, daß bei den bei 13 bis 14°C aufbewahrten Würsten mit 2,4 % NaCl eine leichte Vermehrung der Testkeime nach 12 Tagen auftrat, in den Würsten mit 2,8 % und mehr Kochsalz war jedoch keine Vermehrung festzustellen. Bei Temperaturen zwischen 18 und 21°C war dagegen das Wachstum schon am 3. Tag deutlich verstärkt, am 12. Tag war eine deutliche Hemmung der Bazillen der "Mesentericus-Subtilis-Gruppe" nur noch bei 3,6 % NaCl festzustellen. Bei 2,8 und 3,2 % Kochsalzgehalt bestand in diesem Temperaturbereich eine geringe, bei 2,4 % gar keine Hemmung mehr. Bei den höheren Temperaturen von 24 bis 26°C wurde das Wachstum bei einem Kochsalzgehalt von 3,2 und 3,6 % am 3. Tag noch deutlich gehemmt, am 12. Tag war diese Hemmung jedoch kaum noch merklich.

Nach "Bergey's Manual" (BREED et al. 1957) ist Wachstum folgender aerober Sporenbildner noch möglich bei 2 % Kochsalz in Nährbouillon: *Bac. circulans*, 3 %: *Bac. stearothermophilus*, 4 %: *Bac. lentus*, *Bac. sphaericus*, 5 %: *Bac. firmus*, *Bac. pulvifaciens*, 7 %: *Bac. subtilis* (in einzelnen Fällen bei 10-12 %), *Bac. pumilus* (in einzelnen Fällen bei 10 %), 8 %: *Bac. licheniformis* (ausnahmsweise 12 %), 10 %: *Bac. pantothenticus*. Wachstumsheftung tritt auf bei 2 % Kochsalz in der Nährbouillon: *Bac. brevis*, 5 %: *Bac. lentus*, *Bac. polymyxa*, *Bac. macerans*, *Bac. laterosporus*, *Bac. sphaericus*, 7 %: *Bac. coagulans*, *Bac. badius*,

Bac. circulans, 8 %: *Bac. pulvifaciens*, 10 %: *Bac. firmus*.

Nach den Untersuchungen von GRANVILLE und FIEVEZ 1957 überlebten Bazillensporen in Pökellaken (mit etwa 22 % Kochsalz), während die vegetativen Formen der Bazillen schnell verschwanden.

WALZ 1957 untersuchte das Wachstumsvermögen von 79 Stämmen aerober Sporenbildner aus der morphologischen Gruppe I der Einteilung nach SMITH et al. 1950 in 5 %iger Kochsalzbouillon bei einer Bebrütungstemperatur von 37°C und stellte fest, daß nach 24stündiger Bebrütung schon 64 Stämme ein starkes Wachstum zeigten; nach 3tägiger Bebrütung war bei allen Stämmen Wachstum festzustellen.

BARTH 1960 untersuchte, inwieweit die im Rohwurstbrät vorhandenen Mikroorganismen durch pH-Werte, Kochsalz und Nitrit beeinflussbar waren. Er benutzte als Teststämmen u.a. auch 5 Bakterienstämmen aus der "Mesentericus-Subtilis-Gruppe". 2 bis 3 Tage alte Kolonien wurden in Nährbouillon verimpft, 18 Stunden bei 30°C bebrütet und danach auf Nähragarplatten mit verschiedenen Kochsalzzusätzen ausgestrichen. Die Bebrütung erfolgte 2 Tage bei 30°C und 1 Tag bei Zimmertemperatur. Der Verfasser stellte fest, daß bis zu Kochsalzzugaben von 6,6 % üppiges Wachstum auftrat, bei höheren Konzentrationen wurde eine mehr oder weniger starke Hemmung deutlich. Bei 8,0 %-8,5 %-9 % und 10 % stellten die einzelnen Teststämmen ihre Vermehrungsfähigkeit ein.

Nach KELCH 1961 wuchs *Bac. coagulans* (7 Stämme untersucht) nicht mehr bei 3 % Kochsalz. Durch 5 % Kochsalz im Nährmedium wurden *Bac. stearothermophilus* (5 Stämme) und *Bac. laterosporus* (5 Stämme) vollständig in ihrem Wachstum gehemmt. *Bac. licheniformis* (20 Stämme), *Bac. pantothenicus* (7 Stämme) und *Bac. subtilis* (3 Stämme) zeigten bei 10 % Kochsalz kein oder nur geringes Wachstum.

NIKODÉMUSZ 1962 überimpfte 37 *Bac. cereus*-Stämme und 137 Stämme anderer Sporenbildner auf feste Nährmedien mit verschiedenen

Kochsalzzusätzen und beobachtete das Wachstum mindestens 4 Tage lang. Dabei stellte er fest, daß von den 37 *Bac. cereus*-Stämmen einer bei 8 % NaCl optimal, 16 Stämme mittelmäßig und 20 Stämme nicht ausgewachsen waren. Von den anderen, nicht differenzierten 137 Bazillenstämmen wuchsen bei 8 % NaCl Zusatz 21 optimal, 47 mittelmäßig und 49 nicht aus.

GOULD 1962 untersuchte die Sporenauskeimung von *Bac. cereus*, *Bac. subtilis*, *Bac. licheniformis*, einem als *Bac. globigii* bezeichneten Stamm (= *Bac. subtilis* var. *niger*) und 2 nicht differenzierten Bazillenstämmen mikroskopisch anhand von Mikrokulturen. Bei einem Zusatz von 1, 3 und 6 % NaCl zu dem Nährmedium konnte er bei allen Teststämmen Auskeimung der Sporen feststellen.

KUNDRAT 1963 prüfte das Wachstum aerober Sporenbildner in Anwesenheit von 7 und 10 % Kochsalz und stellte fest, daß folgende Species bei 7 % Kochsalz wachsen konnten: *Bac. cereus*, *Bac. licheniformis*, *Bac. subtilis*, *Bac. pumilus*, *Bac. circulans*; bei 10 % Kochsalz war Wachstum von *Bac. megaterium*, *Bac. thuringiensis*, *Bac. coagulans*, *Bac. badius*, *Bac. firmus* und *Bac. lentus* möglich.

RIEMANN 1963 isolierte Bazillenstämmen von Pökelfleischkonserven und prüfte deren Salztoleranz. Dabei stellte er fest, daß 90 % der isolierten Stämme (überwiegend zu den Species *Bac. licheniformis*, *Bac. cereus* und *Bac. subtilis* gehörend) bei einem 10 %igen Kochsalzzusatz zum Nährmedium wachsen konnten.

Nach den Untersuchungen von SCHEIBNER 1967 an 45 Stämmen aerober Sporenbildner (*Bac. cereus*, *Bac. licheniformis*, *Bac. subtilis*, *Bac. subtilis* var. *aterrimus*, *Bac. coagulans*, *Bac. firmus*, *Bac. brevis* und 14 nicht einzuordnende Stämme) in Nährbouillon und auf Nähragar mit Kochsalzzusätzen bis zu 10 % und maximal 5tägiger Bebrütung bei 28°C, zeigten *Bac. brevis* nur bis zu einer Kochsalzkonzentration bis zu 5 % und 2 von 3 *Bac. cereus*-Stämmen bis zu 8 % Wachstum, während die übrigen 42 Stämme auch bei 10 % Kochsalz wuchsen, wenn auch wesentlich spärlicher und deutlich verzögert.

FLEMING und ORDAL 1964 setzten Kochsalz in 0,1 bis 1,0 molarer Konzentration (0,58 bis 5,8 %) einem modifizierten Thermoacidurans Agar-Medium zu. Sie stellten eine deutliche, mit zunehmender NaCl-Konzentration größer werdende Hemmwirkung auf die Auskeimung von *Bac. subtilis*-Sporen fest.

1964 untersuchte GOULD wiederum mit Hilfe von Mikrokulturen die Wirkung von Kochsalz auf die Auskeimungsfähigkeit von Sporen von *Bac. cereus*, *Bac. subtilis*, *Bac. subtilis* var. *niger* und *Bac. licheniformis* und stellte fest, daß bis zu 8 % Kochsalz im Nährmedium nicht die Auskeimungsfähigkeit von Sporen der untersuchten Stämme verhinderten. Bei 4-5 % Kochsalzzusatz keimten zwar die Sporen der *Bac. cereus*-Stämme aus, wuchsen aber nicht aus. Auf ähnliche Weise wurden die drei anderen Species bei 6-7 % gehemmt. In einigen Fällen waren die Sporenwände bei diesen hohen Salzkonzentrationen aufgebrochen, und die freigelegten vegetativen Zellen verlängerten sich langsam, es trat aber keine Zellvermehrung auf. Konzentrationen von 10 bis 15 % Kochsalz reduzierten fortschreitend die Auskeimungsfähigkeit und verhinderten sie schließlich.

SCHEER 1964 berichtete über den Einfluß von Kochsalz auf die Keimfähigkeit von Sporen folgender *Bacillus*-Species: *Bac. subtilis*, *Bac. cereus*, *Bac. megaterium*, *Bac. mycoides* und 2 aus Zwiebelextrakt isolierten Bazillenstämmen (Z 1 und Z 2). Er arbeitete nach folgender Methodik: Sporensuspensionen, die durch Abschwemmung 4 Wochen alter Nähragarkulturen mit physiol. NaCl-Lösung gewonnen wurden, wurden zur Abtötung vegetativer Formen 10 Minuten lang bei 90°C erhitzt. 10, 12 und 14 %ige Kochsalzlosungen wurden mit 1 ml der Ausgangssuspension beimpft und bei 30°C bebrütet, wobei der Keimgehalt pro ml in den Versuchsansätzen und nach verschiedenen Bebrütungszeiten nach dem Kochschen Plattenverfahren bestimmt wurde. Nach 100 bis 108 Tage langer Bebrütung der beimpften Kochsalzlosungen konnte eine Herabsetzung der Keimungsfähigkeit der Sporen der Teststämmen in unterschiedlicher Ausprägung festgestellt werden, und zwar zeigte *Bac. cereus* in 10 %iger Kochsalzlosung eine

Reduktion um 22 %, in 12 %iger Lösung um 86 %, in 14 %iger Lösung um 96 %. Bei dem Stamm Z 2 trat eine Reduktion um 36 % (10 %ige Lösung), 40 % (12 %ige Lösung) und 47 % (14 %ige Lösung) auf.

Bei den übrigen Stämmen bewirkten die unterschiedlichen Kochsalzkonzentrationen nur geringe Unterschiede in der Keim-schädigung, so daß der Mittelwert der Reduktion angegeben werden konnte: *Bac. mycoides* 92 %, *Bac. cereus* 36 %, *Bac. megaterium* 36 %, Stamm Z 1 57 %.

1966 untersuchten ROBERTS und INGRAM die Fähigkeit von Bazillen- und Clostridiensporen nach verschiedenen Erhitzungsgraden zu Makrokolonien in Nährmedien, denen verschiedene Kochsalzkonzentrationen zugesetzt worden waren, heranzuwachsen. Sporensuspensionen von *Bac. subtilis* wurden 20 Minuten lang auf 80°C oder 45 Minuten lang auf 95°C erhitzt, ein als *Bacillus F* bezeichneter Stamm 30 Minuten auf 80°C und ebenfalls 30 Minuten auf 90°C. Nach der Erhitzung wurden Keimzählungen in Hartley's digest-Agar mit verschiedenen Kochsalzzusätzen durchgeführt (Bebrütung bei 37°C mindestens 48 Stunden bis zu 14 Tagen). Dabei zeigte sich, daß Kochsalzkonzentrationen bis zu 4 % im Medium ohne Wirkung auf die Auskeimungs- und Wachstumsfähigkeit von auf 80°C erhitzten *Bac. subtilis*-Sporen waren. Dagegen konnten nach der Erhitzung auf 95°C nur noch 10 % der Sporen bei Kochsalzkonzentrationen von 1,2 oder 4 % auskeimen und sich vermehren. Eine ähnliche Reduktion in der Salztoleranz zeigte sich auch bei dem als *Bacillus F* bezeichneten Sporenbildner nach Erhitzung auf 90°C (Siehe auch COOK und GILBERT 1965, referiert im Abschnitt c dieses Kapitels.).

TURNER und JERVIS 1968 isolierten 94 pigmentierte und 87 nicht pigmentierte Stämme aerober Sporenbildner aus verschiedenen - salzhaltigen und nicht salzhaltigen - Bodenproben und prüften die Salztoleranz der isolierten Stämme. Dabei stellten sie fest, daß die pigmentierten Stämme höhere Salzkonzentrationen tolerierten als die nicht pigmentierten. Die Autoren schlossen aus ihren Versuchen, daß eine Korrelation zwischen der Salz-

toleranz und dem Besitz karotinoider Pigmente besteht.

Bei ihren Untersuchungen über den Verderb von Anchosen im eigenen Saft prüften BENGIS und SCHEIBNER 1969 die Salztoleranz von 10 *Bac. subtilis*-Stämmen und 1 *Bac. licheniformis*-Stamm in Nährbouillon mit Kochsalzzusatz. Sie stellten Wachstum aller untersuchter Stämme bei 9 %iger Kochsalzkonzentration, bei einigen bei 10 %iger und bei 2 Stämmen auch noch bei 11 %iger Konzentration fest. Bei 12 % Kochsalz im Nährmedium konnte sich keiner der Teststämme mehr vermehren.

In Kochsalz sind fast regelmäßig Mikroorganismen in verschieden hoher Anzahl nachzuweisen (KOLLER 1941). Es gelang PETROWA 1933, SCHOOP 1933, BAIN et al. 1957 und DRIEUX und LABIE 1962, auch aus Kochsalz aerobe Sporenbildner zu isolieren, und zwar fanden PETROWA 1933 "*Bac. mesentericus vulgatus*", "*Bac. mesentericus niger*", "*Bac. mesentericus fuscus*", *Bac. megaterium*, *Bac. cereus* und *Bac. subtilis*, SCHOOP 1933 Bazillen der "*Mesentericus-Subtilis-Gruppe*" und DRIEUX und LABIE 1962 *Bac. coagulans*. BAIN et al. 1957 stellten bei ihren Untersuchungen über den Keimgehalt verschiedener Kochsalzarten Keimzahlen zwischen 0 und 100 000/g fest, wobei als häufigste Gattungen *Bacillus*, *Micrococcus* und *Sarcina* nachgewiesen wurden. Bei den Bazillen handelte es sich überwiegend um *Bac. subtilis* und *Bac. megaterium*.

c) Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch Kochsalz

VILJOEN 1926 untersuchte die Schutzwirkung von Kochsalz auf Bakteriensporen, die in einer aus gebleichten Erbsen gewonnenen Flüssigkeit mit und ohne Kochsalzzusatz in "Thermal death point tubes" erhitzt wurden. Als Wachstumskriterien dienten der Trübungstest und der Umschlag des zugesetzten Indikators Bromkresolpurpur.

Es zeigte sich, daß bei Zusatz von Kochsalz in Konzentrationen bis zu 3,5 % ein schützender Einfluß auf die Bakteriensporen bemerkbar wurde, der sich in einem deutlichen Anstieg in der

zur Abtötung der Sporen notwendigen Zeit ausdrückte. 4 % Kochsalz zeigten entweder keinen Einfluß auf die Hitzeresistenz oder eine Abtötung der Sporen. Die höchste Schutzwirkung des Kochsalzes lag bei 1 bis 2,5 %.

1949 untersuchten ANDERSON et al. den Einfluß von Kochsalz auf die Hitzeresistenz von *Bac. thermoacidurans* (= *Bac. coagulans*) in Tomatensaft, wobei die Sporenkonzentration 100 000 Sporen/ml Tomatensaft betrug. Die Erhitzungsrohrchen wurden nach dem Erhitzen in Eiswasser abgekühlt, die Bestimmung der Zahl überlebender Sporen erfolgte nach dem Kochschen Plattenverfahren in einem Proteose-Pepton-Säure-Agar-Medium. Die Zahl der überlebenden Sporen in Beziehung zur Zeit wurde aufgezeichnet, wobei der Endpunkt bei einer Zerstörung von 99,9 % angesetzt wurde. Eine Erhitzung erfolgte auf 95,6°C, 100°C und 104°C, Kochsalz wurde in Konzentrationen von 1, 2, 4 und 8 % dem Tomatensaft zugesetzt, dadurch erfolgte eine pH-Wert-Erniedrigung des Tomatensaftmediums von ursprünglich 4,4 bis 4,5 auf pH 4,3 bis 4,4; 4,2 bis 4,3; 4,1 und 4,0 bis 4,1. Es ergab sich, daß Kochsalz in verschiedenen Konzentrationen die Hitzeresistenz der Sporen des Teststammes deutlich herabsetzte, wobei zunehmende Konzentrationen schnellere Abtötungsraten und kürzere Abtötungszeiten bewirkten. Dabei zeigte der Zusatz von 1 % Salz eine sehr geringe Wirkung, 2 % verkürzte die Abtötungszeit um 20 %, 4 % Kochsalz um 30 % und 8 % Kochsalz um 40 %. Verfasser vermuteten, daß die Letalwirkung des Kochsalzes - wenigstens teilweise - durch den erniedrigten pH-Wert des Substrates hervorgerufen wurde.

Nach CURRAN 1952 steigerte Salz in geringen Konzentrationen die Hitzeresistenz mesophiler Arten von aeroben und anaeroben Sporenbildnern; bei Kochsalzkonzentrationen von mehr als 8 % wurde sie dagegen vermindert. Eine Salzkonzentration von 1 % setzte schon die Hitzeresistenz einiger thermophiler Arten deutlich herab. Der Verfasser vertrat die Ansicht, daß Salz in Konzentrationen, wie sie bei der Pökellung von Fleisch benutzt werden, nur geringe oder gar keine Wirkung auf die Hitzetole-

ranz der für die Verderbnis wichtigen Mikroorganismen zeigte. Es besteht jedoch die Möglichkeit, daß diese Mengen schon ausreichen, um ein Auskeimen der Sporen nach dem Erhitzungsvorgang zu verhindern.

FRANK 1955 fand bei seinen Untersuchungen über die Hitzeresistenz von *Bac. coagulans* in einem Tomatensaftmedium mit verschiedenen Kationen, daß die Hitzeresistenz der Sporen signifikant zunahm, wenn Na^+ oder K^+ Ionen aus dem Medium bei einem pH von 4,4 entfernt wurden. Die Bestimmung der Hitzeresistenz erfolgte mit Hilfe der Thermoresistometermethode.

Nach STUMBO 1965 wird die Hitzeresistenz vieler Mikroorganismen durch Zusatz niedriger Kochsalzkonzentrationen (bis zu 4 %) zum Erhitzungsmedium erhöht, wogegen höhere Konzentrationen eine Abnahme der Hitzeresistenz bewirken. So kann die Hitzeresistenz der Sporen einiger Bazillusarten durch den Zusatz von 2 % Kochsalz zu einigen Nahrungsmittelprodukten mehr als verdoppelt werden.

COOK und GILBERT 1969 führten Untersuchungen durch zur Bestimmung der kombinierten Wirkung von Kochsalz und Hitze auf Sporen der thermophilen Bazillusart *Bac. stearothermophilus* und über den Einfluß von Kochsalz auf die Auskeimungs- und Vermehrungsfähigkeit erhitzter Sporen. Zur Bestimmung der Hitzeresistenz wurden Sporensuspensionen in Wasser mit 2,4 und 8 % Kochsalz erhitzt und die Zahl der überlebenden Sporen nach dem Oberflächenverfahren bestimmt (Bebrütung bei 50°C 3 Tage). Dabei zeigte es sich, daß die D_{115} -Werte für eine 10^4 -Keimzahlreduktion mit zunehmender Kochsalzkonzentration in dem Erhitzungsmedium abnahmen. Diese Werte betrugen für Sporen, die in Gegenwart von 8 % Kochsalz erhitzt worden waren, nur noch 50 % derjenigen Werte für Sporen, die in wäßriger Suspension erhitzt worden waren. Die Wirkung von Kochsalz auf die Lebensfähigkeit erhitzter Sporen wurde geprüft, indem hitzegeschockte Sporen (10 Minuten bei 115°C) oder stärker erhitzte Sporen (60 Minuten bei 115°C , das ergab 1 % überlebende Sporen) auf Nährmedium mit Salzzusätzen zwischen 1 und 4 % ausgespatelt wurden (Be-

brütung bei 50°C bis zu 28 Tage). Es wurde festgestellt, daß die hitzegeschockten oder stärker ernitzten Sporen zunehmend empfindlicher gegenüber Salz in dem Nährmedium wurden.

Über den Einfluß von Kochsalz in dem Sporulationsmedium auf die Hitzeresistenz der auf diesem Medium gebildeten *Bac. subtilis*-Sporen führten WILLIAMS 1929 und FLEMING und ORDAL 1964 Untersuchungen durch.

WILLIAMS 1929 benutzte dazu folgende Versuchsanordnung:

Eine Sporensuspension mit etwa 50 Mio gewaschenen Sporen wurde in einer Phosphatpufferlösung auf 95°C erhitzt, danach wurde die erhitzte und gleich darauf gekühlte Suspension in ein "Recovery-Medium" aus reinem Brühextrakt gegeben. Die Bestimmung der Hitzeresistenz erfolgte nach dem letzten Erhitzungsröhrchen, das noch Wachstum zeigte. Dabei zeigte sich, daß die Zugabe von Kochsalz in 0,1, 0,3 und 0,5 molarer Konzentration (= 0,58 %; 1,74 %; 2,9 %) zum Sporulationsmedium ohne Einfluß auf die Hitzeresistenz der darauf gebildeten Sporen war.

FLEMING und ORDAL 1964 stellten dagegen bei ihren Untersuchungen fest, daß durch Zusatz von Kochsalz in dem Sporulationsmedium in 0,1 bis 1,0 molarer Konzentration (= 0,58 bis 5,8 %) Hitzeresistenz und Auskeimungsrate der darauf gebildeten Sporen vermindert waren.

d) Beeinflussung anderer Eigenschaften aerober Sporenbildner durch Kochsalz

Nach INGRAM und KITCHELL 1967 ist allgemein zu sagen, daß geringe Konzentrationen von Kochsalz die Lebensäußerungen der Bakterien stimulieren, während höhere Konzentrationen hemmend wirken, z.B. auf Fermentationsvermögen, Beweglichkeit und Sporenbildung. Ebenso können Form und Größe der Bakterienzellen bei verschiedenen Salzkonzentrationen variieren.

SCHCOP 1933 verbrachte Suspensionen von *Bac. subtilis* in Aqua dest., 0,9 %, 10,0 % und 20 %ige Kochsalzlösung und konnte keine Veränderungen in der mikroskopischen Morphologie feststellen.

INGRAM 1939, 1940 untersuchte den Einfluß von Salzen auf die endogene Respiration von *Bac. cereus* in Abwesenheit von Nährsubstraten und stellte fest, daß geringe Kochsalzkonzentrationen bis zu 0,2 M (= 1,16 %) stimulierend auf die endogene Respiration wirkten, dagegen hemmten höhere Konzentrationen diese Atmung mit zunehmender Konzentration in immer stärkerem Ausmaße.

2.) Essigsäure, Natriumacetat, Natriumdiacetat

In der mir zugänglichen Literatur wurden einige Arbeiten über die Wirkung der Essigsäure auf aerobe Sporenbildner gefunden, jedoch nur eine über die Wirkung des Natriumacetates und drei über die Wirkung des Natriumdiacetates. Weiterhin wurden drei Arbeiten über die Wirkung der Essigsäure bzw. des Acetates auf die Hitzeresistenz aerober Sporenbildner aufgefunden.

a) Wirkungsweise von organischen Säuren auf Mikroorganismen

Über die Wirkung schwacher organischer Säuren auf Mikroorganismen besteht weitgehende Einigkeit. Während die desinfizierende Wirkung stark dissoziierter mineralischer Säuren hauptsächlich von der Anzahl der freien Wasserstoff-Ionen abhängt, üben die schwachen organischen Säuren eine stärkere toxische Wirkung aus, als nach dem Grad ihrer Dissoziation erwartet werden könnte. Es wird deshalb vermutet, daß für die Wirkung dieser Säuren neben dem Wasserstoff-Ion auch die Konzentration der anwesenden undissoziierten Säure bedeutsam ist; deren Wirkung variiert jedoch mit der Art der Säure (WYNNE 1931, REID 1932, LEVINE und FELLERS 1940a, Literaturübersicht von NURMHEIMER und FABIAN 1940, FABIAN und GRAHAM 1953, FRAZIER 1967).

Nach INGRAM et al. 1956 müssen bei der antimikrobiellen Aktivität einer Säure drei Aspekte betrachtet werden: 1.) die Wirkung des pH allein, 2.) die Beziehungen zwischen den Wirkungen der dissoziierten und undissoziierten Säure, die abhängig vom pH-Wert sind und 3.) spezifische Wirkungen.

Er führt dazu aus, daß bei Säuren wie Essigsäure und Milchsäure die undissoziierte Form als die wirksamere angesehen wird,

weil ungeladene molekulare Einheiten im Allgemeinen schneller in Zellen eindringen als elektrisch geladene Ionen. Da bei diesen Säuren unsomehr undissoziierte Bestandteile vorliegen, je niedriger der pH-Wert des sie umgebenden Substrates ist, sind sie besonders geeignet zum Gebrauch unter sauren Bedingungen und weniger wirksam in fast neutralen Lebensmitteln wie Fleisch oder Fisch. Weil diese Säuren gewöhnlich in geringen Mengen benutzt werden, überwiegt die Pufferwirkung des Lebensmittels diejenige des Zusatzstoffes, der deshalb auch als Salz zugesetzt werden kann. Die spezifischen Unterschiede in der Wirkung der einzelnen Säuren müssen abhängig sein von den Unterschieden zwischen den Molekülen der einzelnen Präservative. Diese bestehen in der Leichtigkeit, mit der sie in die Zelle eindringen, in dem Teil der Zelle, den sie angreifen, und in der chemischen Natur dieses Angriffes.

b) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Essigsäure

Um eine kurze Übersicht über die mit Hilfe von Essigsäure eingestellten pH-Werte, bei denen das Wachstum aerober Sporenbildner vollständig gehemmt wurde und gleichzeitig einen Vergleich der mit Hilfe verschiedener Säuren eingestellten pH-Werte zu ermöglichen, wurden die Ergebnisse der nachfolgend referierten Arbeiten in Tabelle 1 zusammengefaßt. Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß die angegebenen pH-Werte, mit denen eine vollständige Hemmung erreicht wurde, zwischen weniger als 5,0 und 4,5 schwanken, also ziemlich nahe beieinander liegen. Ein Vergleich zwischen den mit Essigsäure und den mit anderen Säuren eingestellten pH-Werten zeigt bei den nicht differenzierten Stämmen gute Übereinstimmung (pH 4,6 gegenüber pH 4,5 und 4,0) und deutliche Unterschiede (pH 5,0 gegenüber 3,9). Die für *Bac. cereus* gemachten Angaben stimmen gut überein (pH 4,9 gegenüber 4,5). Einige Autoren untersuchten die Essigsäurekonzentration, die das Wachstum aerober Sporenbildner vollständig unterdrückte. Diese Angaben sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3:

Zusammenstellung der Literaturangaben über Essig-, Zitronen- und Milchsäurekonzentrationen, die vollständige Wachstums- hemmung aerober Sporenbildner bewirkten.

	nicht differen- zierte Bazillen	Mesentericus- Subtilis-Gruppe	Bac. megaterium	Bac. cereus var. mycoides	Bac. subtilis	Bac. coagulans
Essigsäure %						
ERICKSON und FABIAN 1942	0,102					0,126
BOESE 1955		0,2				
INGRAM et al. 1956					0,2	
SCHEER 1964			6,0	14,0	2,0	

Zitronensäure %

ERICKSON und FABIAN 1942	0,098					0,119
MURDOCK 1950	0,13 ^I 0,256 ^I					

Milchsäure %

ERICKSON und FABIAN 1942	0,099					0,099
-----------------------------------	-------	--	--	--	--	-------

^I pH-Wert abhängig

Daraus ist zu ersehen, daß die Konzentrationen zwischen 0,102 % und 14,0 % angegeben werden.

Auch hierbei ist einschränkend zu sagen, daß die pH-Werte und Konzentrationsangaben der Tabellen 1 und 3 Arbeiten entnommen wurden, die nach unterschiedlichen Gesichtspunkten und unterschiedlicher Methodik durchgeführt wurden.

Im Einzelnen führten die Autoren Folgendes aus:

Nach LEVINE und FELLERS 1940a sind die hauptsächlichen Gründe für die Verwendung der Essigsäure zur Nahrungsmittelkonservierung ihr toxischer Wert, ihre leichte Verfügbarkeit und ihre niedrigen Kosten. Die Autoren untersuchten die hemmende und letale Konzentration der Essigsäure auf lebensmittelverderbende Mikroorganismen, darunter *Bac. cereus* und "*Bac. mesentericus*". Hemmende und letale Konzentrationen wurden nach einer etwas modifizierten Phenol-Coeffizientenmethode bestimmt, wobei bekannte Mengen von Säure und Nährmedium in verschiedenen Teströhrchen gemischt, inokuliert und bei optimalen Temperaturen bebrütet wurden. Eine Hemmwirkung, d.h. es war kein Wachstum mehr festzustellen, lebende Mikroorganismen waren jedoch noch vorhanden, trat bei *Bac. cereus* und "*Bac. mesentericus*" bei pH-Werten bis 4,9 auf; bei niedrigeren pH-Werten wurden die Mikroorganismen abgetötet.

Dieselben Autoren untersuchten später (LEVINE und FELLERS 1940b) die Wirkung der Essigsäure auf die totale Zerstörung oder Reduktion der Bakterienzahl durch 15 Minuten langen Kontakt der Testkeime mit Essigsäurelösungen. Danach wurden zur Feststellung überlebender Keime Keimzählungen auf Nähragar durchgeführt. Als Testkeim wurde u.a. *Bac. cereus* benutzt. 360 vegetative Keime und 84 Sporen des Teststammes wurden pro ml der wäßrigen Essigsäurelösung zugesetzt. Es konnte gezeigt werden, daß bei einem pH-Wert von 4,2 (totale Acidität 0,005 %) eine Reduktion der Anzahl vegetativer Keime um 55 %, der Sporen um 61 % auftrat. Diese Reduktion wurde mit zunehmender Säurekonzentration stärker, bei pH 3,3 (totale Acidität 0,17 %) betrug sie 79 % der vegetativen Keime und 93 % der Sporen.

ERICKSON und FABIAN 1942 führten Untersuchungen über die bakteriostatische und bakterizide Wirkung verschiedener Zucker und organischer Säuren auf Hefen und Bakterien durch. Als Teststämme wurden u.a. "*Bac. calidolactis*" und *Bac. coagulans* benutzt, die Säuren in Normalitäten von 0,1 bis 5,0 hergestellt. Diese Säurelösungen wurden in verschiedenen Mengen in Reagenzgläser gefüllt und mit 10 ml Nährbouillon versetzt. Die Reagenzgläser wurden mit einem oder zwei Tropfen einer 24 Stunden alten Kultur der Teststämme beimpft und bei optimalen Temperaturen 7 Tage lang bebrütet. Danach wurden 0,5 ml der Lösung in Nährbouillon überführt zur Feststellung, ob Wachstum auftrat oder nicht. In Abständen wurde auch die Zahl lebender Mikroorganismen durch Keimzählung auf einem Standardmilchagar bestimmt. Als wachstumshemmende Konzentration wurde die Menge angesehen, bei der in der Nährbouillon mit Säurezusatz kein sichtbares Wachstum mehr auftrat, jedoch in der Subkultur in Nährbouillon ohne Säurezusatz noch Wachstum sichtbar wurde. Um eine Wachstumshemmung zu bewirken, waren bei *Bac. coagulans* 0,126 % Essigsäure im Nährmedium notwendig, bei *Bac. calidolactis* 0,102 %. Um diese Teststämme abzutöten, wurden 0,135 % (*Bac. coagulans*) und 0,120 % (*Bac. calidolactis*) benötigt. Bei einem pH-Wert von 4,52 wuchs *Bac. coagulans* noch, wurde bei pH 4,5 gehemmt und bei pH 4,48 abgetötet. Für *Bac. calidolactis* waren die entsprechenden pH-Werte 4,62 (noch Wachstum), 4,60 (Hemmung) und 4,52 (Abtötung).

FABIAN und GRAHAM 1953 untersuchten den Einfluß von organischen Säuren auf 5 obligat und fakultativ thermophile Stämme aerober Sporenbildner nach einer im Kapitel V 1.) (Natriumchlorid) beschriebenen Methode, wobei das Nährmedium (Dextrose-Trypton-Bouillon) mit den Säuren auf verschiedene pH-Werte eingestellt wurde. Bei einem pH-Wert von 5,5 war der Einfluß der Säuren auf das Wachstum der Teststämme unterschiedlich stark in der Reihenfolge Zitronensäure - Essigsäure - Milchsäure. Für Essigsäure ergab sich, daß bei einem pH von 5,5 noch Vermehrung auftrat und die bakterizide Wirkung bei pH 5,0 begann.

BOESE 1955 führte Untersuchungen durch zur Feststellung des pH-Wertes, bei dem mit Sicherheit die Vermehrung des "Bac. mesentericus" unterdrückt wurde. Dazu wurden Essigsäure-Stärke-Bouillonnährböden, in denen die Säure in steigenden Mengen von 0,05 % bis 0,5 % enthalten war, mit dem Teststamm beimpft. Die pH-Werte der Nährmedien betrugen zwischen 5,62 und 4,06. Der Teststamm wurde bei 0,2 % Essigsäure (pH 4,57) deutlich gehemmt. Hierbei waren vegetative Formen nicht mehr nachzuweisen, jedoch noch Sporen und Sporangien. Eine Abtötung der Sporen konnte auch mit 0,5 % Essigsäure (pH 4,06) nicht erreicht werden.

LOCHMANN 1955 stellte eine 3 %ige Laktosebouillon in Reagenzgläsern mit Essigsäure auf verschiedene pH-Werte ein. Jedes Reagenzglas wurde mit 2 "Mesentericus"-verkeimten Pfefferkörnern beschickt und anschließend 7 Tage bei 37°C bebrütet. Er fand, daß Bazillen der "Mesentericus-Subtilis-Gruppe" bis zu einem pH-Wert von 4,6 völlig gehemmt wurden, bei pH-Werten zwischen 4,7 und 5,5 nur unvollständiges Wachstum zeigten und bei pH-Werten über 6,0 nicht mehr gehemmt wurden.

Nach INGRAM et al. 1956 wird Essigsäure in großem Maße als Präservativ benutzt, wobei sie wirksamer gegen Bakterien und Hefen als gegen Schimmelpilze sein soll. In Brot ist sie in 0,1 %iger Konzentration (bezogen auf das Mehlgewicht) eines der wirksamsten Mittel gegen das Fadenziehen (verursacht durch Bac. subtilis); sie verhindert in Brot in 0,1 %iger Konzentration 3-6 Tage das Fadenziehen (pH-Wert des Brotes 5,4) und in 0,2 %iger Konzentration mehr als 21 Tage (pH des Brotes 5,3).

Das Verhalten verschiedener Stämme der "Mesentericus-Subtilis-Gruppe" gegenüber verschiedenen, mit Eisessig eingestellten Säuregraden, untersuchte ENDERS 1957. Er benutzte flüssige und feste Nährmedien (Nährbouillon und Nähragar) und stellte sie auf pH-Werte zwischen 4,1 und 7,2 ein. Die Beimpfung der Nährmedien erfolgte aus 24 Stunden alten Schrägagarkulturen (also überwiegend vegetative Formen), bebrütet wurde 14 Tage lang bei 37°C. Es konnte gezeigt werden, daß das Wachstum der Bazillen

der "Mesentericus-Subtilis-Gruppe" bis zu pH-Werten von 4,8 vollkommen gehemmt wurde, daß bei pH 4,9 ein zögerndes, unvollständiges Wachstum auftrat und bei pH 5,1 keine Wachstumshemmung mehr bestand.

Durch Überimpfung eines Tropfens aus nicht bewachsenen Röhrchen in Nährbouillon mit einem pH-Wert von 7,4 konnte gezeigt werden, daß durch ein saures Nährmedium zwar eine vollkommene Wachstumshemmung, nicht jedoch eine Abtötung der Keime zu erreichen war.

WALZ 1957 untersuchte das Wachstum von 79 Stämmen aerober Sporenbildner in Stierhodenpeptonbouillon, die mit Hilfe von Essigsäure auf pH-Werte zwischen 3,5 und 5,5 eingestellt wurde. Die Bebrütungstemperatur war unterschiedlich und zwar 12 bis 15°C, 18 bis 20°C, 25°C, 30°C und 37°C. Die Untersuchungen ergaben, daß bei pH-Werten von 4,5 und darunter auch bei den optimalen Temperaturen von 30°C und 37°C kein Wachstum auftrat. Bei pH 5,0 und einer Temperatur von 37°C war bei der Mehrzahl der Stämme gutes Wachstum zu beobachten. Deutlich wurde eine Verzögerung des Wachstums bei niedrigen Temperaturen und tiefen pH-Werten. Bei 25°C und Zimmertemperatur war das Wachstum bei pH 5,5 leicht und bei pH 5,0 stark verzögert. In den Temperaturbereichen von 12 bis 15°C trat kein Wachstum auf.

ROEMMELE und van der WALL 1961 untersuchten die bakterizide Wirkung von Essigsäure auf Salmonellen und andere Keimarten, wobei auch 1 "Bac. mesentericus-subtilis"-Stamm untersucht wurde. Suspensionen der Teststämmen wurden durch Abschwemmung von Schrägagarkulturen hergestellt und auf die Dichte des Brucella-antigens eingestellt, danach erfolgte eine Keimzahlbestimmung. Säureverdünnungen mit verschiedenen pH-Werten wurden mit den Suspensionen beimpft und bei 37°C aufbewahrt. Zur Feststellung überlebender Keime wurden je 3 Ösen der beimpften Säureverdünnungen auf Platten ausgestrichen und 48 Stunden bei 37°C bebrütet. Während alle Teststämmen mit Ausnahme von "Bac. mesentericus" bei 37°C in Essigsäure von 0,03 (pH 4,2) und 0,05 % (pH 3,5) innerhalb von 2 Tagen vollständig abgetötet wurden,

war "Bac. mesentericus" über 5 Tage lang nicht in seiner Vermehrungsfähigkeit beeinträchtigt.

SCHEER 1964 untersuchte nach der im Kapitel V 1 (Kochsalz) beschriebenen Methodik den Einfluß von 2 bis 14 %iger Essigsäurelösung auf die Keimfähigkeit von Sporen der Species Bac. subtilis, Bac. cereus, Bac. megaterium, Bac. mycoides und 2 aus Zwiebelextrakt isolierten Bacillusstämmen (Z 1, Z 2). Die Sporen der untersuchten Stämme erwiesen sich als unterschiedlich resistent.

Die Sporen der Teststämmen konnten nach 7tägiger Einwirkung von Essigsäure folgender Konzentrationen nicht mehr auskeimen: Z 1, Bac. subtilis 2 %, Bac. megaterium 6 %; Z 2, Bac. mycoides (= Bac. cereus var. mycoides) 8 %. Dagegen blieb ein Teil der Bac. cereus-Sporen auch noch nach 41tägiger Einwirkung von 14 %iger Essigsäure auskeimungsfähig.

c) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Natriumacetat

In der mir zugänglichen Literatur konnte nur der Hinweis gefunden werden, daß Natriumacetat keine Hemmwirkung gegenüber Schimmelpilzen hat und Fadenziehen von Brot (verursacht durch Bac. subtilis) nicht verhindern kann (GLABE 1950).

d) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Natriumdiacetat

1938 wurde die starke Hemmwirkung von Natriumdiacetat gegenüber Schimmelpilzen und dem Erreger des Fadenziehens des Brotes von BAUER und GLABE entdeckt (GLABE 1950). Dieses Komplexsalz hat die empirisch festgestellte Formel $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot \text{H}_1\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ und enthält 34 % undissoziierte Essigsäure (GLABE 1950, INGRAM et al. 1956). Nach GLABE 1950 genügt schon die geringe Konzentration von 0,15 % (bezogen auf das Mehlgewicht), um vollständig das Fadenziehen von Brot zu verhindern, obgleich diese Menge noch

nicht den pH-Wert des Brotes senkt. Nach Meinung des Autors ist für diese Wirkung der undissoziierte Essigsäurebestandteil des Natriumdiacetates verantwortlich. Nach der Ansicht von INGRAM et al. 1956 wirkt das Natriumdiacetat durch pH-Wert-Erniedrigung und spezifisch toxische Eigenschaften auf Mikroorganismen, und verhindert Schimmelpilzwachstum und Fadenziehen des Brotes, letzteres in einer Konzentration von 0,2 % (bezogen auf das Mehlgewicht) 3 bis 6 Tage, von 0,3 % (bei einem pH-Wert des Brotes von 5,5) 17 bis 21 Tage.

Auch nach SOUCI und MERGENTHALER 1958 wird Natriumdiacetat zur Verhinderung der Schimmelbildung und des Fadenziehens bei Backwaren in Konzentrationen zwischen 0,06 und 0,3 % empfohlen.

e) Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch Essigsäure und Natriumacetat

LEVINE und FELLERS 1940a bestimmten die Hitzeresistenz von *Bac. cereus* und "*Bac. mesentericus*" in Medien, deren Wasserstoffionenkonzentration mit Essigsäure eingestellt worden war. Die Suspension der Teststämme enthielt vegetative Zellen und Sporen. Die Inokulierung der Erhitzungsmedien wurde mit einer Standard-4 mm-Ose durchgeführt. Die Autoren stellten fest, daß beide Teststämme bei einem pH-Wert von 6,6 in 10 Minuten bei Temperaturen von 100°C und bei einem pH-Wert von 5,5 in 10 Minuten bei Temperaturen von 60°C abgetötet wurden.

Untersuchungen über den Einfluß von Säuren auf die Hitzeresistenz von *Bac. thermoacidurans* (= *Bac. coagulans*) in Tomatensaft führten ANDERSON et al. 1949 durch. Essigsäure wurde Tomatensaft in Konzentrationen von 0,5 - 1,0 - 2,0 % zugesetzt, wodurch der pH-Wert des Tomatensaftes bis auf 3,1 sank. Die angewandte Untersuchungsmethode wurde bereits oben beschrieben (siehe Kapitel V 1. - Kochsalz). Die Autoren fanden, daß die Abtötungszeit umso kürzer war, je niedriger der pH-Wert in dem Erhitzungsmedium war. Im einzelnen wurden folgende Werte ermittelt:

(D = Abtötungszeit in Minuten von 90 % der vorhandenen Keime bei beliebiger Temperatur)

	D _{95,6°C}	D _{100°C}	D _{104°C}	F-Wert	pH-Wert
Tomatensaft	55	22	8,2	0,25	4,4 bis 4,5
Tomatensaft mit 0,5 % Essigsäure	30	12	4,5	0,15	4,0 bis 4,1
Tomatensaft mit 1,0 % Essigsäure	19	8,5	3,4	0,14	3,9 bis 4,0
Tomatensaft mit 2,0 % Essigsäure	11	5	2,5	0,125	3,7

WILLIAMS 1929 untersuchte nach einer oben (siehe Kapitel V 1. - Kochsalz) beschriebenen Methode den Einfluß ernährungsbedingter Faktoren auf die Hitzeresistenz von *Bac. subtilis*-Sporen, die auf Medien mit verschiedenen Zusätzen organischer Substanzen gebildet worden waren. Danach ergab sich, daß 0,1 % Natriumacetat in dem Sporulationsmedium zu Sporen mit erhöhter Hitzeresistenz führten (Abtötung bei 95°C nach 45 Minuten gegenüber durchschnittlich 35 Minuten bei den Kontrollen). Die Ursache der erhöhten Hitzeresistenz konnte nicht geklärt werden.

3.) Zitronensäure, Natriumcitrat

Über die Wirkung von Zitronensäure auf das Wachstum aerober Sporenbildner wurden in der mir zugänglichen Literatur 4 Arbeiten, über die Natriumcitratwirkung 2 Arbeiten, ferner noch je 1 Arbeit über die Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch Zitronensäure und Natriumcitrat und 1 Arbeit über die Citratwirkung auf die endogene Respiration von *Bac. cereus* gefunden.

a) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Zitronensäure

Einen kurzen Überblick über die mit Hilfe von Zitronensäure eingestellten pH-Werte, bei denen das Wachstum aerober Sporenbildner vollständig gehemmt wurde und gleichzeitig einen Vergleich mit pH-Werten, die mit anderen Säuren eingestellt wurden, gibt Tabelle 1. Die für Zitronensäure angegebenen pH-Werte liegen danach zwischen 4,48 und 4,8, also ziemlich nahe beieinander. Ein Vergleich zwischen den mit Zitronensäure und den mit anderen Säuren eingestellten pH-Werten zeigt teilweise gute Übereinstimmung bei den nicht differenzierten Stämmen, sehr gute Übereinstimmung bei *Bac. coagulans* bei den mit Essigsäure und Zitronensäure eingestellten pH-Werten (4,48 gegenüber 4,5). Die Angaben einiger Autoren, bezogen auf die Zitronensäurekonzentration, die das Wachstum aerober Sporenbildner vollständig unterdrückte, sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Daraus ist zu ersehen, daß Konzentrationen zwischen 0,098 und 0,256 % angegeben werden.

Auch hierbei ist einschränkend zu sagen, daß die pH-Wert- und Konzentrationsangaben der Tabellen 1 und 3 Arbeiten entnommen wurden, die teilweise nach unterschiedlichen Gesichtspunkten und unterschiedlicher Methodik durchgeführt wurden.

Im Einzelnen führten die Autoren Folgendes aus:

ERICKSON und FABIAN 1942 untersuchten den Einfluß von Säuren auf *Bac. calidolactis* und *Bac. coagulans* nach der im Kapitel V 2.) - Essigsäure angegebenen Methodik. Eine Wachstumsheftung von *Bac. coagulans* durch Zitronensäure gelang bei Zusatz von 0,119 %, bei *Bac. calidolactis* genügte schon ein Zusatz von 0,098 %. Zur Abtötung von *Bac. coagulans* waren 0,140 % Zitronensäure, von *Bac. calidolactis* 0,105 % notwendig. Dabei betrugen die pH-Werte der Medien für *Bac. coagulans* 4,50 (noch Wachstum möglich), 4,48 (Hemmung), 4,32 (Abtötung) und für *Bac. calidolactis* 4,68 (Wachstum), 4,52 (Hemmung) und 4,50 (Abtötung).

Ein Vergleich der keimhemmenden und -abtötenden Wirkung von verschiedenen organischen Säuren ergab folgende Reihenfolge bei Zugrundelegung der Konzentration: Milchsäure - Essigsäure - Zitronensäure, bei Zugrundelegung des pH-Wertes: Essigsäure - Zitronensäure - Milchsäure.

Nach der im Kapitel IV (Wasserstoffionenkonzentration) beschriebenen Methode untersuchte MURDOCK 1950 den Einfluß von Zitronensäure auf das Auskeimen von 3 Stämmen aerober Sporenbildner. Dazu wurden einem Nährmedium Zitronensäure oder verschiedene Konzentrationen von Natriumcitrat zugesetzt, wobei bei letzterem noch zusätzlich Zitronensäure dem Medium zugegeben werden mußte, um den erwünschten pH-Wert zu erreichen. Es konnte gezeigt werden, daß Zitronensäure oder das Citrat-Ion einen bemerkenswerten Einfluß auf die Sporen der Testkeime hatte. Bei pH 5,0 war ein kleiner bakteriostatischer Effekt zu sehen, bei pH 4,8 begann eine deutliche Hemmung. Die Hemmwirkung wurde bei weiter gesenktem pH-Wert noch deutlicher. Bei pH 5,0 zeigten 0,904 % Zitronensäure nur geringe Hemmwirkung, während bei pH 4,8 schon von 0,256 % und bei pH 4,6 von 0,13 % Zitronensäure im Nährmedium ein deutlicher bakteriostatischer Effekt hervorgerufen wurde. Der Verfasser wies darauf hin, daß normalerweise in Tomatensaft 0,216 bis 0,465 % Zitronensäure bei einem durchschnittlichen pH-Wert von 4,1 vorhanden sind. Die Diskrepanz zu den Laboruntersuchungen versuchte er durch die komplexe Zusammensetzung des Tomatensaftes zu erklären, wobei möglicherweise Faktoren in dem Tomatensaft vorhanden sind, die die bakteriostatische Wirkung der Zitronensäure vermindern oder die Germination der Sporen stimulieren.

FABIAN und GRAHAM 1953 untersuchten den Einfluß von organischen Säuren auf 5 obligat und fakultativ thermophile Stämme aerober Sporenbildner nach der in Kapitel V 1.) (Natriumchlorid) beschriebenen Methode, wobei das Nährmedium (Dextrose-Trypton-Bouillon) mit den Säuren auf verschiedene pH-Werte eingestellt wurde. Bei Einstellung des pH auf Werte zwischen 6,0 und 6,5 zeigte sich mit abnehmendem pH-Wert eine Wachs-

tumsabnahme. Jenseits von pH 5,5 zeigte eine Säurezunahme jedoch, daß die Zahl lebender Zellen nicht signifikant stärker abnahm. Bei einem Vergleich verschiedener Säuren bei dem pH-Wert von 5,5 war Zitronensäure wirksamer als Essigsäure und Milchsäure.

Nach den Angaben von INGRAM et al. 1956 verhindert die Zugabe von 0,15 % Zitronensäure (bezogen auf das Mehlgewicht) das Fadenziehen des Brotes 0 bis 3 Tage.

b) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Natriumcitrat

Die Arbeit von MURDOCK 1950 wurde weiter oben (im Abschnitt a) dieses Kapitels) referiert.

1954 veröffentlichten RICE und PEDERSON die Ergebnisse ihrer Untersuchungen über den Einfluß verschiedener, in Tomatensaft enthaltener Faktoren auf das Wachstum von Bac. coagulans. Sie benutzten dazu die bereits im Kapitel IV (Wasserstoffionenkonzentration) beschriebene Methodik. Die natürliche Citratkonzentration von Tomatensaft beträgt zwischen 0,3 und 0,4 %, die Autoren untersuchten dazu noch die Wirkung von 0,4 - 0,5 - 0,6 und 0,8 % totalem Citrat (zugesetzt als Natriumcitrat) in Tomatensaft, wobei der Saft jeden Citratgehaltes auf 4 pH-Werte und zwar 4,23 - 4,30 - 4,40 und 4,5 eingestellt wurde. Eine Konzentrationserhöhung des Citrates von 0,4 % auf 0,8 % in dem Tomatensaft hatte eine Erhöhung des Minimum-pH-Wertes (bei dem gerade noch Wachstum möglich war) um 0,1 bis 0,2 pH-Einheiten zur Folge und zwar stieg der Minimum-pH-Wert bei einer Sporenanzahl von 10^6 /ml von 4,23 auf 4,4 und bei 10^3 Sporen/ml von 4,4 auf 4,5, wobei allerdings Unterschiede bei den einzelnen Bac. coagulans-Stämmen auftraten.

c) Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch Zitronensäure und Natriumcitrat

Nach den Untersuchungen von ANDERSON et al. 1949 (Methode siehe

Kapitel V 2.-Essigsäure) führte der Zusatz von Zitronensäure in 0,5 - 1,0 und 2 %iger Konzentration zum Erhitzungsmedium, ebenso wie der Zusatz von Essigsäure und Milchsäure, bei zunehmender Konzentration zu einer abnehmenden Hitzeresistenz der Sporen des Teststammes *Bac. thermoacidurans* (= *Bac. coagulans*).

WILLIAMS 1929 untersuchte nach einer im Kapitel V 1.) - Kochsalz beschriebenen Methode den Einfluß ernährungsbedingter Faktoren auf die Hitzeresistenz von *Bac. subtilis*-Sporen. Dabei zeigte sich, daß der Zusatz von 0,140% Natriumcitrat zum Sporulationsmedium keinen Einfluß auf die Hitzeresistenz ausübte.

d) Beeinflussung anderer Eigenschaften aerober Sporenbildner durch Zitronensäure

Nach den 1939 von INGRAM veröffentlichten Untersuchungen über den Einfluß von Citrat auf die endogene Respiration von *Bac. cereus* in einem nährstoffreien Substrat bewirkte geringe Konzentration von Natriumcitrat ebenso wie alle untersuchten Salze eine Zunahme der endogenen Respiration.

4.) Milchsäure, Laktat

Im Folgenden werden einige Arbeiten über die Wirkung von Milchsäure und eine Arbeit über die Laktatwirkung auf das Wachstum aerober Sporenbildner sowie eine Arbeit über die Beeinflussung der Hitzeresistenz von Sporen aerob wachsender Bazillen referiert.

a) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Milchsäure

Einen kurzen Überblick über die mit Hilfe von Milchsäure eingestellten pH-Werte, bei denen das Wachstum aerober Sporenbildner

vollständig gehemmt wurde und gleichzeitig einen Vergleich mit pH-Werten, die mit anderen Säuren eingestellt wurden, gibt Tabelle 1. Die für Milchsäure angegebenen pH-Werte liegen danach zwischen 4,34 und 5,5. Ein Vergleich zwischen den mit Hilfe von Milchsäure und den mit anderen Säuren eingestellten pH-Werten, zeigt bei den nicht differenzierten Stämmen nur teilweise gute Übereinstimmung. Bei *Bac. licheniformis* reichte bei Einstellung mit Milchsäure pH 5,5, gegenüber pH 4,5 bei anderen Säuren zur vollständigen Wachstumshemmung. Sehr gute Übereinstimmung zeigten die Werte für *Bac. subtilis* (pH 4,5), gute bei *Bac. coagulans* (pH 4,34 gegenüber pH 4,48; 4,5 und 4,0). Zur Hemmung von *Bac. coagulans* und einem nicht differenzierten Stamm war eine Milchsäurekonzentration von 0,099 % ausreichend (siehe Tabelle 3). Auch hierbei ist einschränkend zu sagen, daß die Angaben der Tabellen 1 und 3 Arbeiten entnommen wurden, die teilweise nach unterschiedlichen Gesichtspunkten und unterschiedlicher Methodik durchgeführt wurden.

Im Einzelnen führten die Autoren Folgendes aus:

ERICKSON und FABIAN 1942 untersuchten nach der im Kapitel V 2. dieser Literaturübersicht angegebenen Methodik auch den Einfluß von Milchsäure auf das Wachstum von *Bac. coagulans* und "*Bac. calidolactis*". Zur Wachstumshemmung beider Teststämmen waren 0,099 % Säure im Nährmedium erforderlich; zur Abtötung 0,113 %. Beide Stämme wuchsen bei einem pH-Wert von 4,4 noch, wurden bei pH 4,34 gehemmt und bei pH 4,30 abgetötet. Aus den Untersuchungen der Autoren an Milch-, Essig- und Zitronensäure zeigte sich, daß bei der Zugrundelegung des Prozentanteils der Säure im Nährmedium Milchsäure stärker wirksam war als Essigsäure und Zitronensäure, wobei die Essigsäure eine stärkere Wirkung zeigte als Zitronensäure. Bei einem Vergleich der pH-Werte, bei denen die einzelnen Säuren Hemmung und Abtötung hervorriefen, war Essigsäure stärker wirksam als Zitronensäure, diese wirksamer als Milchsäure.

Nach der im Kapitel V 1. beschriebenen Methodik führten FABIAN und GRAHAM 1953 Untersuchungen über den Einfluß von Milchsäure

auf 5 thermophile Bazillen durch. Bei einem pH-Wert von 5,5 war die Reihenfolge der untersuchten Säuren nach ihrer Wachstumshemmung der Teststämmen 1.) Zitronensäure, 2.) Essigsäure und 3.) Milchsäure. Die Teststämmen konnten sich bis zum pH-Wert von 5,5 in Gegenwart von Milchsäure vermehren, eine germicide Wirkung begann ab pH 5,0. Ebenso wie bei Essigsäure bewirkte eine weitere Erniedrigung des pH-Wertes keine signifikant stärkere Abtötung.

Bei einem Vergleich der relativen Hemmwirkung von verschiedenen organischen Säuren auf das Wachstum von *Bac. coagulans* in Tomatensaft fanden RICE und PEDERSON 1954 folgende Reihenfolge in der Wirksamkeit: Oxalsäure, Ameisensäure, Milchsäure, Malonsäure, Zitronensäure, Pyrrolidincarboxylsäure, Propionsäure, Essigsäure, wobei die ersten drei Säuren (Oxal-, Ameisen- und Milchsäure) viermal stärker wirksam waren als die anderen Säuren.

Nach INGRAM et al. 1956 wird auch Milchsäure zur Haltbarmachung von Lebensmitteln benutzt, besonders von Brot, wobei mit Milchsäure der pH-Wert des Brotes auf ungefähr 4,5 gesenkt wird. Die Autoren weisen darauf hin, daß Milchsäure ein natürlicher Bestandteil vieler Nahrungsmittel ist, und schließen daraus auf die gesundheitliche Unbedenklichkeit dieses Zusatzstoffes.

Nach BENGIS und SCHEIBNER 1969 zeigte *Bac. subtilis* in Nährbouillon von pH 5,0 noch Wachstum, dagegen wuchs er nicht mehr bei pH 4,5. *Bac. licheniformis* wuchs und vermehrte sich noch bei pH 6,0, jedoch nicht mehr bei 5,5. Die Nährbouillon war auf verschiedene pH-Werte mit Milchsäure eingestellt worden, die Nährmedien waren 5 Tage lang bei 37°C bebrütet worden.

b) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Laktat

FABIAN und BRYAN 1933 untersuchten den Einfluß von Natriumlaktat auf Lebensfähigkeit und Sporulation von *Bac. subtilis*, *Bac. cereus*, *Bac. megaterium* und "*Bac. mesentericus*" und stellten fest, daß dieses Salz ebenso wie Natriumchlorid, Ammoniumchlorid und Kaliumchlorid in einer 0,25 molaren Konzentration Wachstum und

Sporulation der Teststämme maximal stimulierte.

c) Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch Milchsäure

Nach der bereits im Kapitel V 1. und V 2. beschriebenen Methodik untersuchten ANDERSON et al. 1949 den Einfluß von 0,5 %; 1,0 % und 2,0 % Milchsäure auf die Hitzeresistenz von *Bac. thermoacidurans*-Sporen in Tomatensaft. Auch hier war die Abtötungszeit in Minuten umso kürzer, je niedriger der pH-Wert des Mediums war. Im Einzelnen wurden folgende Werte ermittelt:

	D _{95,6°C}	D _{100°C}	D _{104°C}	F-Wert	pH-Wert
Tomatensaft ohne Zusätze	55	22	8,2	0,25	4,4 bis 4,5
Tomatensaft mit 0,5 % Milchsäure	23	10,5	4,8	0,25	3,8 bis 3,9
Tomatensaft mit 1,0 % Milchsäure	13	6	3,2	0,19	3,5 bis 3,6
Tomatensaft mit 2,0 % Milchsäure	4,7	2,5	1,6	0,14	3,2 bis 3,3

5.) Weinsäure, Tartrat

Nach INGRAM et al. 1956 wird Weinsäure zur Haltbarmachung von Lebensmitteln benutzt, da sie neben der Hemmung von Schimmelpilzwachstum auch das Fadenziehen des Brotes (verursacht durch *Bac. subtilis*) verhindern kann.

Im Abschnitt V8.dieser Literaturübersicht wird ferner die Wirkung von Weinsäure und Tartrat in Kombination mit Kochsalz und anderen Genußsäuren und ihren Salzen auf das Wachstum aerober Sporenbildner referiert.

6.) Phosphat

Über die Wirkung von Phosphaten auf aerobe Sporenbildner liegen nach meiner Literaturübersicht nur wenig Untersuchungen vor. Hierbei befaßte sich die Mehrzahl der Autoren mit den Einflüssen von Phosphaten auf die Hitzeresistenz dieser Keimgattung.

Im Folgenden wird a) über den Wirkungsmechanismus von Phosphaten auf Mikroorganismen, b) über die Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Phosphate und c) über die Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch Phosphate berichtet.

a) Wirkungsweise von Phosphaten auf Mikroorganismen

Nach HOFFMANN-OSTERHOF 1954 wirkt Pyrophosphat als Inhibitor der Succinat-Dehydrogenase (Bernsteinsäuredehydrogenase). Dieses Enzym ist weit verbreitet, nur wenige strikt anaerob wachsende Bakterien scheinen keine Succinat-Dehydrogenase zu besitzen. Nach KARLSON 1967 ist dieses Enzym ein Flavoproteid, das mit der Atmungskette besonders eng verwandt ist. Da die Bernsteinsäure eine Zwischenstufe des Zitronensäurezyklus ist, ist die Verknüpfung der Bernsteinsäuredehydrierung mit der Atmungskette von besonderer physiologischer Bedeutung.

Nach KOTTER 1961 werden Mikroorganismen in Fleischerzeugnissen durch Pyrophosphat so aufgelockert, daß sie für ungünstige Umwelteinflüsse empfänglicher sind und aus diesem Grunde auch bei Hitzeeinwirkung schneller abgetötet werden.

Auch WIRZ 1961 führte die verminderte Hitzeresistenz in Anwesenheit von Pyrophosphat auf eine Quellung des Bakterienprotoplasmas zurück. Dabei wird das Eiweiß wasserreicher und ist daher einer Hitzedenaturierung rascher zugänglich. In Versuchen konnte der Autor die verstärkte Quellung im Trommsdorffröhrchen demonstrieren. Für diese Auffassung spricht auch die Tatsache, daß durch Zusatz von Kochsalz die Hitzeresistenzverminderung weitgehend aufgehoben wird.

Polyphosphate haben nach den Befunden der Autoren vom polnischen Institut für Fleischforschung in Warschau (KOSIBA et al. 1968) an sich keine bakteriostatischen Eigenschaften. Jedoch ermöglicht ihr Zusatz dem Hersteller drastischere Erhitzung der Fleischprodukte, wodurch Erzeugnisse mit besserer Haltbarkeit erreicht werden.

b) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Phosphate

Nach den Untersuchungen von FLEMING und ORDAL 1964 konnten *Bac. subtilis*-Sporen in Suspensionen, die 10^{10} Sporen/ml enthielten, bei Zusatz von Phosphat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$) in 0,1 molarer Konzentration auskeimen, wobei der pH-Wert der Suspension auf 7,0 mit NaOH eingestellt worden war.

WIRZ 1961 stellte fest, daß vegetative Formen von *Bac. cereus* durch Zusatz von 1 % Natriumpyrophosphat zum Nährmedium abgetötet wurden, während Sporen von *Bac. cereus* durch den Zusatz von 1 % dieses Phosphates nicht beeinflusst wurden.

GOULD 1964 untersuchte die Wirkung eines Polyphosphatpräparates ("Natriumhexametaphosphat") auf *Bac. cereus*, *Bac. subtilis* var. *niger* und *Bac. licheniformis* nach einer bereits beschriebenen Methode (Kapitel V 1. - Kochsalz) und stellte fest, daß bei Konzentrationen von 0,2 bis 1,0 % die Testkeime zwar auskeimen konnten, die höheren Konzentrationen jedoch das für das Auskeimen erforderliche Aufbrechen oder die Lysis der Zellwand verhindern konnten. Bei den niedrigeren hemmenden Konzentrationen war zwar noch ein Auswachsen der neuen Zellen möglich, die neuen Zellen konnten sich jedoch nicht mehr zu normalen vegetativen Formen entwickeln. Mehr als 1,0 % des Polyphosphatpräparates reduzierten die Germinationsraten der Sporen.

WOLPERTH 1960 verglich verschiedene Brätzusatzmittel (siehe im Kapitel V 8, Kombinationen) mit einem Phosphatpräparat ("Plastal"), das aus Natriumsalzen von Pyro- und Polyphosphorsäuren bestand. Der Autor beimpfte Bouillonröhrchen, denen Plastal in 5 - 10 - 15 und 20 %iger Konzentration zugesetzt

worden war mit Teststämmen, darunter *Bac. subtilis*, und strich nach 24stündiger Bebrütung bei 37°C je 1 Öse Material aus den Bouillonröhrchen auf Nährböden aus. Nach 24stündiger Bebrütung bei 37°C wurde das eingetretene Wachstum geprüft. Es ergab sich, daß erst bei einem Zusatz von 10 % Plastal das Wachstum von *Bac. subtilis* gehemmt wurde.

KELCH und BÜHLMANN 1958 prüften die Wirksamkeit der Phosphatpräparate Curafos und Fibrisol, deren Zusammensetzung nicht angegeben wurde, auf verschiedene Mikroorganismen - darunter auch *Bac. subtilis* - zunächst in Angleichung an die bei der Prüfung von Antibiotica angewandten Verfahren nach dem Filplättchentest und nach dem Lochtest. Bei beiden Verfahren konnte keine Hemmwirkung festgestellt werden (Bebrütung bei 25, 30 und 37°C für 48 Stunden). Weiterhin wurden vegetative Formen und - getrennt davon - Sporen von *Bac. subtilis* in Dextrose-Hefeextrakt-Bouillon mit 0,3, 0,5 und 1 %igem Zusatz des jeweiligen Phosphatpräparates gegeben. Nach Bebrütung dieser Nährmedien bei 37°C bis zu 8 Tagen wurde eingetretenes Wachstum nach der Trübung des Mediums bestimmt. Dabei zeigte sich, daß Curafos die Bazillen - vegetative Formen und Sporen - in der 0,5 und 1 %igen Konzentration vollständig hemmte und in der 0,3 %igen Konzentration erst nach 4 Tagen Wachstum auftrat, während Fibrisol in 1 %iger Konzentration das Wachstum nur 4 Tage, in 0,5 und 0,3 %iger Konzentration nur für die Dauer von 24 Stunden hemmen konnte.

c) Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch Phosphate

Über die Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch Monophosphate berichteten WILLIAMS und HENNESSEE 1956, PUT und WYBINGA 1963 und PUT und AALBERSBERG 1967.

WILLIAMS und HENNESSEE 1956 gaben zu Sporensuspensionen von *Bac. stearothermophilus*-Stämmen Phosphatpuffer (Mischungen von Mono- und Dinatriumphosphat) in 1/15, 1/30, 1/60 und 1/120 molarer Konzentrationen und erhitzen auf 120°C. Danach wurden erhitzte Sporen in ein "Recovery Medium" über-

tragen und nach 5tägiger Bebrütung das Wachstum geprüft. Ferner wurde Material aus erhitzten Sporensuspensionen in "Recovery-Medien" übertragen, in denen die gleiche Phosphatkonzentration vorlag wie in dem Erhitzungsmedium.

Nach diesen Versuchen zeigte sich eine Resistenzzunahme der *Bac. stearothermophilus*-Sporen bei abnehmenden molaren Phosphatkonzentrationen, wobei zwar Resistenzunterschiede durch die Molarität des Puffers, in dem erhitzt wurde, bewirkt wurden, die meisten Unterschiede jedoch die Hemmwirkung des Phosphates, das als Puffer dem "Recovery Medium" in mehr als 1/120 molarer Konzentration zugesetzt worden war, hervorrief. Bei Phosphatkonzentrationen von weniger als 1/120 M schien eine Auskeimungs- und Wachstumsstimulierung vorzuliegen, die sich in offensichtlich größerer Resistenz zeigte.

Auch PUT und WYBINGA 1963 stellten eine Abnahme der Hitzeresistenz bei höheren Phosphatkonzentrationen fest. So war nach ihren Untersuchungen die Hitzeresistenz von *Bac. coagulans*-Sporen in 1/40 M Phosphat größer als in 1/15 M Phosphat.

Nach PUT und AALBERSBERG 1967 war die Hitzeresistenz der Sporen eines *Bac. subtilis*-Stammes, der aus gebratenem Reis isoliert worden war, in M/40 Phosphat-Puffer (pH 6,8) etwas niedriger als in gebratenem Reis (pH 6,4) ($D_{112,5}$ 4,2 Minuten bzw. 4,5 Minuten). Ebenso war auch die Hitzeresistenz der Sporen eines anderen *Bac. subtilis*-Stammes in dem Substrat, aus dem er isoliert worden war (kondensierte Milch) größer als in M/40 Phosphatpuffer ($D_{112,5}$ 6,7 Minuten bzw. 5,0 Minuten).

KELCH und BÜHLMANN 1958 untersuchten den Einfluß zweier Phosphatpräparate (Curafos und Brätfibrisol) auf die Hitzeresistenz von *Bac. subtilis*, wobei Temperaturen von 50 bis 90°C 30 Minuten lang angewendet wurden. Diese Versuche wurden ebenfalls an vegetativen Formen und an Sporen durchgeführt. Dazu wurde Dextrose-Hefeextrakt-Bouillon mit 0,3, 0,5 und 1,0 % der Phosphatpräparate versetzt, mit vegetativen Formen bzw. Sporen inokuliert, erhitzt und anschließend bebrütet bei 37°C bis zu 8 Tagen. Wachstumsbestimmung erfolgte nach dem Trübungsgrad des

Nährmediums. Durch Erhitzung auf 75°C und höher wurden die vegetativen Formen des Teststammes in jedem Fall abgetötet - auch in Medien ohne Phosphatzusatz. Bei niedrigeren Erhitzungstemperaturen bewirkte Phosphatzusatz eine vollständige Wachstumshemmung oder ein verzögertes Wachstum. Hierbei ergaben sich deutliche Unterschiede zwischen Curafos und Fibrisol, und zwar bewirkte Curafos bei Erhitzung auf 50°C in 0,5 und 1 %iger Konzentration eine vollständige Hemmung, bei Erhitzung auf 65°C in 0,3 %iger Konzentration eine Wachstumshemmung über 4 Tage. Dagegen konnte Fibrisol bei Erhitzung auf 50°C erst in 1 %iger Konzentration das Wachstum völlig unterdrücken. Bei Versuchen mit versportem Material wurden in den erhitzten und in den nicht erhitzten Röhrchen mit Zusatz von Curafos und Fibrisol weitgehend übereinstimmende Resultate erzielt.

7.) Nitrat und Nitrit

Bei Untersuchungen über den Einfluß dieser Pökelstoffe auf das Wachstum von Bakterien wurden als Testkeime vielfach Mikrokokken, Staphylokokken, gramnegative Keime und Clostridien benutzt, seltener jedoch aerobe Sporenbildner. In der mir zugänglichen Literatur wurden Arbeiten gefunden a) über den Wirkungsmechanismus von Nitrat und Nitrit auf Bakterien, über Einflüsse auf das Wachstum aerober Sporenbildner durch b) Nitrat und c) Nitrit, d) kombinierte Wirkung von Nitrat und Nitrit und e) über die Beeinflussung der Hitzeresistenz durch diese Pökelstoffe.

a) Wirkungsweise von Nitrat und Nitrit auf Mikroorganismen

Nach KOLLER 1941 wirken Nitrates und Nitrites direkt keimwidrig, Nitrates außerdem noch indirekt keimwidrig durch ihren Abbau zu Nitriten.

NIINIVAARA 1955 konnte durch Versuche mit einem Mikrokokkus-Stamm zeigen, daß der bakterizide Effekt der Nitrat- und Nitritationen sehr gering ist. Die keimhemmende Wirkung dieser

Stoffe beruht nach seinen Ergebnissen in erster Linie darauf, daß die Reduktionsreaktionen des Nitrats das Redoxpotential stabilisieren, wodurch besonders die anaeroben Bakterien gehemmt werden, da ein für die Vermehrung der anaeroben Bakterien genügend niedriges Niveau nicht erreicht wird.

Nach FRAZIER 1967 heben Nitrate das Oxidations-Reduktionspotential, während es Nitrite senken.

Ferner kann durch bakteriell bedingte Reduktion von Nitrat und Nitrit Hydroxylamin entstehen, welches stark bakterizid oder zumindest bakteriostatisch wirkt (LINDSEY und RHINES 1932, NIINIVAARA 1955).

Nach FRAZIER 1967 wirken Nitrite außerdem auf die α -Amino-Gruppen von Aminosäuren bei niedrigem pH-Wert, reagieren mit Monophenolen, z.B. Tyrosin, wobei das undissoziierte Nitrit-Molekül besonders wirksam sein soll, und rufen dadurch eine bakteriostatische Wirkung hervor.

Bei ihren Untersuchungen über die Wirkung von Natriumnitrit auf Lebensmittelvergiftung hervorrufoende Staphylokokken und verwandte Mikroorganismen bzw. einen Bacillus-Stamm stellten CASTELLANI und NIVEN 1955 sowie EDDY und INGRAM 1956 fest, daß der pH-Wert der Umgebung die Höhe der Nitritkonzentration, die Keimhemmung hervorrief, beeinflusste, und zwar zeigte sich eine bakteriostatische Wirkung nur in saurem Bereich.

Die Autoren bestätigten damit die von JENSEN 1954 geäußerte Vermutung, daß bei der Nitritwirkung nicht die Konzentration des Nitritradikals, sondern die Konzentration der undissoziierten salpetrigen Säure von Bedeutung ist, wobei deren Anteil bei der pH-Wert-Abnahme um eine Einheit um das Zehnfache steigt.

Nach ZATOCIL 1963 können aus Nitriten Stickstoffdioxid und persalpetrige Säure entstehen. Diese Stoffe zeichnen sich durch Oxydationseigenschaften aus und sind offensichtlich auch die Ursachen der direkten bakteriziden Wirkung der Nitrite in mäßig saurem Milieu, die besonders bei Luftsauerstoffzutritt oder sofort nach dem Zusatz der Nitrite beobachtet werden konnte. Per-

salpetrige Säure könnte seiner Meinung nach vielleicht eine Oxydationsdestruktion der Bakterien-Zellstruktur hervorrufen. Dagegen haben Nitrite in alkalischem Milieu keine bakterizide Wirkung.

Nach INGRAM 1939 wurde bei einem pH-Wert von 6,0 die Sauerstoffaufnahme von *Bac. cereus* deutlich durch Nitrit gehemmt. Dieses deutet eine Interferenz des Nitrits mit dem Cytochrom-System an. Dagegen stellte TARR 1941 fest, daß bei zwei *Achromobacter*-Stämmen und zwei *Mikrococcus*-Stämmen, deren Wachstum in Bouillon deutlich verzögert wurde durch Nitrit, die aerobe Respiration von nur einem *Achromobacter*-Stamm durch Nitrit bei verschiedenen pH-Werten gehemmt wurde. Daraus schloß er, daß Nitrit nicht allein durch seine toxische Wirkung auf die Katalysatoren der aeroben Respiration Bakterienwachstum hemmt.

b) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Nitrat

Nach HYATT und LEVINSON 1961 stimulieren 0,025 m M (= 0,00025 %) Kaliumnitrat die Auskeimung von *Bac. megaterium*-Sporen. Während erhitzte Sporen (10 Minuten auf Temperaturen zwischen 52,5°C und 70°C) in KNO_3 allein auskeimen können und zwar 60 % in 25 m M (= 0,25 %) KNO_3 , 38 % in 2,5 m M (= 0,025 %) und 20 % in 0,25 m M (= 0,0025 %), besitzen unerhitzte Sporen diese Fähigkeit nicht. Jedoch kann bei Anwesenheit von Glucose oder L-Alanin durch Zusatz von 0,25 m M (= 0,0025 %) KNO_3 die Anfangsrate der Auskeimung sowohl von erhitzten als auch von unerhitzten Sporen erhöht werden.

c) Beeinflussung des Wachstums aerober Sporenbildner durch Nitrit

Nach EDDY 1957 wird die antibakterielle Wirkung von Nitrit stark modifiziert durch die Umgebung, wobei der wichtigste Umgebungsfaktor der pH-Wert ist. Auch CASTELLANI und NIVEN 1955 unterstrichen die Abhängigkeit der Nitritwirkung von dem pH-Wert. Aus diesem Grunde wird bereits in diesem Abschnitt auch die Wirkung des Natriumnitrits bei verschiedenen pH-Werten besprochen, und nicht erst im Kapitel V 8. Kombinationen ver-

schiedener Hilfsstoffe und Verfahren (einschließlich pH-Wert).

EDDY und INGRAM 1956 berichteten, daß ein aus einer verdorbenen Schinkenkonserve isolierter Bazillus-Stamm unter aeroben Bedingungen (Schüttelkultur, Bebrütung bei 37°C) bei pH 6,5 und pH 6,0 noch bei einer Konzentration von 1,0 % NaNO_2 im flüssigen Nährmedium wachsen konnte, dagegen trat bei pH 5,5 bei Anwesenheit von 1,0 % NaNO_2 bei Bebrütung bis 144 Stunden eine vollständige, bei 0,3 % eine teilweise Wachstumshemmung des Teststammes ein. Unter anaeroben Bedingungen bewirkte schon eine Konzentration von 3 p.p.m. (= 0,0003 %) NaNO_2 bei einem pH-Wert von 5,5 vollständige Wachstumshemmung, bei pH 6,0 dagegen trat bei 300 p.p.m. (= 0,03 %) NaNO_2 noch - wenn auch verzögertes - Wachstum auf. Wachstum wurde durch Trübungsmessungen festgestellt, wobei die Wachstumsstärke durch Vergleich mit einer Standardwachstumskurve ermittelt wurde.

BAUER 1960 stellte fest, daß das zu Zersetzungserscheinungen bei Dosenwürstchen führende Bakterienwachstum stets dann auftrat, wenn der Nitritgehalt des Wurstgutes unter 5 bis 6 g/g sank. Er konnte allerdings feststellen, daß massierte Infektionen die Hemmwirkung des Nitrites auf die Auskeimung aufhoben. Dabei lag eine Sporenanzahl von 2 000/g Wurstgut bereits über der Toleranzgrenze.

ROBERTS und INGRAM 1956 untersuchten den Einfluß von Natriumnitrit auf das Auskeimungs- und Wachstumsvermögen erhitzter Bakteriensporen nach der bereits im Kapitel V 1. (Kochsalz) beschriebenen Methode, wobei Natriumnitrit dem Nährmedium in Konzentrationen bis zu 1 600 p.p.m. (= 0,16 %) zugesetzt wurde und pH-Werte von 5,6; 6,2; 6,6 und 7,6 angewandt wurden. Die Untersuchungen hatten folgendes Ergebnis:

Nach 30 Minuten langer Erhitzung auf 80°C konnten Sporen von *Bac. subtilis* bei pH-Werten von 7,6 und 6,6 noch zu Kolonien auswachsen, sogar bei einer Nitritkonzentration von 1 600 p.p.m. (= 0,16 %). Eine Reduktion des pH-Wertes auf 6,2 bewirkte, daß bei einer Konzentration von 600 p.p.m. (= 0,06 %) NaNO_2 weniger als 0,001 % der überlebenden Sporen zu Kolonien

auswachsen konnten. Bei pH 5,6 war die Hemmwirkung von Natriumnitrit noch deutlicher, hier genügten 200 p.p.m. (= 0,02 %) NaNO_2 , um nur noch 0,016 % der Sporen auswachsen zu lassen. Nach einer Erhitzung der Sporen auf 95°C (45 Minuten) ergaben sich nur geringe Unterschiede gegenüber den auf 80°C erhitzten Sporen. Bei dem als Bacillus F bezeichneten Stamm hatte ebenfalls bei pH-Werten von 7,6 und 6,6 eine Natriumnitritkonzentration von 1600 p.p.m. (= 0,16 %) nur einen geringen Einfluß auf das Auskeimungsvermögen der hitzebehandelten Sporen. Dagegen wurden die Sporen bei einem pH-Wert von 6,2 empfindlich gegenüber Natriumnitritkonzentrationen von mehr als 400 p.p.m. (= 0,04 %), bei pH-Werten von 5,6 trat schon bei NaNO_2 Konzentrationen ab 100 p.p.m. (= 0,01 %) kein Wachstum mehr auf.

d) Kombinierte Wirkung von Nitrat und Nitrit

EDDY und INGRAM 1956 untersuchten nach der oben beschriebenen Methode den Einfluß von Nitrit in Anwesenheit von Nitrat auf einen Bacillus-Stamm und stellten fest, daß Zusatz von 1 % Nitrat bei pH-Werten von 6,5 oder 6,0 keine Wirkung zeigte. Dagegen erwies sich, daß bei einem pH-Wert von 5,5 beim Vorliegen von mehr als 0,02 % Nitrit eine deutliche Erhöhung der Wachstumsgeschwindigkeit zu verzeichnen war, wenn 1 % Kaliumnitrat im Nährmedium vorlag.

e) Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch Nitrat und Nitrit

Nach STUMBO 1965 können Nitrat und Nitrit in Wasser und Kulturmedien die Hitzeresistenz von Bakterien beeinflussen, diese Stoffe haben jedoch in den gewöhnlich angewandten Konzentrationen keinen Einfluß auf die Hitzeresistenz von Bakterien in Fleisch.

Arbeiten über die Beeinflussung der Hitzeresistenz aerober Sporenbildner durch Nitrat und Nitrit wurden in der mir zugänglichen Literatur nicht gefunden.

8. Kombinationen verschiedener Hilfsstoffe (einschließlich pH-Wert) in ihrer Auswirkung auf aerobe Sporenbildner

In der mir zugänglichen Literatur wurden Arbeiten über folgende Kombinationen verschiedener Hilfsstoffe (einschließlich pH-Wert) in ihrer Auswirkung auf aerobe Sporenbildner gefunden:

- a) Kochsalz, pH
- b) Essigsäure, Zitronensäure, Weinsäure, Milchsäure und deren Salze, Kochsalz
- c) Kochsalz, Pökelstoffe
- d) pH, Phosphate
- e) Phosphate, Zitronensäure, Weinsäure, Pökelstoffe.

Die Arbeiten befaßten sich überwiegend mit der Auswirkung dieser Kombinationen auf Wachstums-, Vermehrungs- und Auskeimungsfähigkeit aerober Sporenbildner.

a) Kombination verschiedener Kochsalzkonzentrationen und pH-Werte

EDDY und INGRAM 1956 führten Untersuchungen über die pH-Kochsalz-Beziehungen bei einem aus einer bombierten Schinkenkonserve isolierten Bazillus-Stamm durch. Als Basalmedium wurde ein Pepton-Lab-Lemco-Wasser-Gemisch benutzt, das 0,04 % Kochsalz enthielt und durch Zusatz von Kochsalz auf Konzentrationen von 5,10, 15 und 20 % und auf pH-Werte zwischen 4,6 und 8,2 eingestellt wurde. Trübungsmessungen wurden sofort nach der Inokulierung und in täglichen Abständen bis zum Wachstumsstillstand durchgeführt. Es zeigte sich, daß 5 % Kochsalz im Nährmedium die pH-Wachstumsgrenzen des Teststammes erweiterten. Bei Kochsalzkonzentrationen über 5 % begannen sich die pH-Wachstumsgrenzen wieder einzuengen. Bei Kochsalzkonzentrationen von 20 % trat kein Wachstum mehr auf.

Niedrige pH-Werte erhöhen nach LERCHE 1956 die bakterizide Wirkung von Kochsalz. Dieser Effekt ist seiner Meinung nach besonders deutlich bei Proteus und Bazillen der "Mesentericus-

Subtilis-Gruppe". Bei diesen Mikroorganismen sollen pH-Werte von 5,5 und 6,0 schon hemmend wirken, wenn gleichzeitig Salz vorliegt.

WALZ 1957 stellte fest, daß Kochsalzkonzentrationen von 3,2 % bei pH-Werten um 7,0 und Bebrütungstemperaturen von 37°C nur einen unwesentlichen Einfluß auf das Wachstum von 79 Stämmen aerober Sporenbildner ausübten. Dagegen kam dem Kochsalz bei pH-Werten von 5,5 und 5,0 eine deutliche Hemmwirkung auf die Mikroorganismen zu. Diese hemmende Wirkung wurde durch Anwendung niedriger Temperaturen wirkungsvoll unterstützt.

BARTH 1960 untersuchte den Einfluß von verschiedenen Kochsalz-pH-Kombinationen auf die Bakterienflora des Rohwurstbrätes und wählte als Teststämme u.a. 5 Stämme aerober Sporenbildner und untersuchte dabei pro Stamm 6 verschiedene pH-Wert-Kochsalz-Kombinationen. Zur Methodik schrieb er: "Gewöhnliche Bouillon wurde mit den verschiedenen gewählten Kochsalzkonzentrationen versetzt, aufgekocht und im Dampftopf sterilisiert. Darauf wurde der gewünschte pH-Wert eingestellt und nochmals sterilisiert. Diese Nährböden wurden nun mit den reingezüchteten Keimen beschickt und 18 Stunden bei 30°C im Brutschrank aufbewahrt. Die Bouillon wurde dann auf gewöhnliche Agarplatten ausgestrichen. Die beimpften Platten wurden 2 Tage im Brutschrank bei einer Temperatur von 30°C und darauf 2 Tage bei Zimmertemperatur gehalten, daran anschließend wurden sie beurteilt". Die Untersuchungen hatten folgendes Ergebnis: 1 Stamm zeigte keine Vermehrung mehr bei 6,5 % NaCl und einem pH-Wert von 4,1, ein anderer wuchs nicht mehr bei 5,5 % NaCl und pH 3,9, 1 Stamm wurde bei 10 % NaCl und pH 3,5, 1 Stamm bei 7 % NaCl und pH 3,5 stark gehemmt, beide Stämme konnten aber noch wachsen. Ein anderer Stamm dagegen benötigte pH-Werte um 5,0 bei gleichen Kochsalzzusätzen wie die anderen 4 Stämme, um noch wachsen zu können.

GOULD 1964 folgerte aus seinen Untersuchungen über den Einfluß von Nahrungsmittelzusätzen auf die Auskeimungsfähigkeit von *Bac. cereus*, *Bac. subtilis* und *Bac. licheniformis*, daß Konzen-

trationen von 10 bis 15 % Kochsalz zunehmend die Keimungsfähigkeit reduzierten und schließlich verhinderten, wobei die Hemmwirkung bei pH-Werten von 6,0 und 7,0 ähnlich war. Die angewandte Untersuchungsmethodik wurde bereits im Kapitel V 1. (Kochsalz) beschrieben.

Nach INGRAM und KITCHELL 1967 ist es offensichtlich ein allgemeines Gesetz, daß - wenn die Acidität steigt - weniger Salz notwendig ist, um das Wachstum von Mikroorganismen zu verhindern. Es handelt sich also um eine synergistische Wirkung von Salz und pH.

BENGS und SCHEIBNER 1969 untersuchten das Wachstum von 10 *Bac. subtilis*-Stämmen und 1 *Bac. licheniformis*-Stamm bei Kombination verschiedener Kochsalzkonzentrationen, pH-Werte und Bebrütungstemperaturen. Dabei betrugen die pH-Werte 5,5 und 6,0, die Kochsalzkonzentrationen 7, 8, 9, 10, 11 und 12 % und die Bebrütungstemperaturen 22°C und 37°C während fünf Tagen. Die Untersuchungen ergaben, daß bei pH 5,5/NaCl 7 %/22°C vier der Teststämmen nicht mehr wuchsen, bei pH 5,5/NaCl 8 %/22°C wuchs keiner der Teststämmen mehr. Bei Bebrütungstemperaturen von 37°C und pH 5,5 war bei 7 % NaCl z.T. noch sehr starkes Wachstum, bei 8 % bei 8 Stämmen noch schwaches bzw. mittelgradiges Wachstum festzustellen. Bei pH 5,5/NaCl 9 %/37°C wuchsen noch 2 der Teststämmen, bei pH 5,5/NaCl 10 %/37°C noch 1 Teststamm. Erst ab pH 5,5/NaCl 11 % war bei Bebrütungstemperaturen von 37°C bei allen Teststämmen kein Wachstum mehr feststellbar. Bei pH 6,0 und einer Bebrütungstemperatur von 22°C wuchs ab 9 % Kochsalz keiner der Teststämmen mehr, bei einer Temperatur von 37°C waren bei dieser Kombination 4 der Teststämmen nicht am Wachstum gehindert. Bei pH 6,0/NaCl 10 %/37°C wuchs noch 1 Teststamm, ab pH 6,0/NaCl 11 %/37°C war kein Wachstum mehr festzustellen.

Über die Kombinationswirkung von verschiedenen pH-Werten und Kochsalzkonzentrationen auf die endogene Respiration von *Bac. cereus* schrieb INGRAM 1939, 1940. Er stellte fest, daß der pH-Wert optimaler Respiration nicht geändert wurde, wenn Natri-

umchlorid zugefügt wurde. Kleinere Mengen von Kochsalz steigerten die Respirationsrate, größere verminderten sie. Dieses galt für alle pH-Werte. Die respirationssteigernde Wirkung von Kochsalz war umso größer, je mehr der pH-Wert von demjenigen der optimalen Respiration differierte. Die Kochsalzkonzentration, die gebraucht wurde, um maximale Respiration zu stimulieren, war am geringsten bei dem pH-Wert der optimalen Respiration.

b) Kombination verschiedener Essigsäure-, Zitronensäure-, Weinsäure-, Milchsäurekonzentrationen und deren Salze mit Kochsalz

Über die Wirkung der Mischung von Salzen schrieb KOLLER 1941, daß sie - abgesehen von dem Einfluß der pH-Wert-Verschiebung - durch die Summe der Einzelpotenzen bestimmt zu sein scheint.

Dagegen können nach WINSLOW und HAYWOOD 1931 zwar einige, nicht jedoch alle der Phänomene des Salzantagonismus dadurch erklärt werden, daß es sich um eine einfache additive Wirkung der spezifischen Potenzen der beteiligten Kationen handelt.

In der mir zugänglichen Literatur wurden über den Einfluß verschiedener Salz- und Säurekombinationen auf aerobe Sporenbildner nur drei Arbeiten gefunden. Dabei handelte es sich um Untersuchungen über Kombinationen von Kochsalz und Essigsäure, um Untersuchungen über ein Darmbehandlungsmittel aus Milch-, Wein-, Essig- und Zitronensäure und deren Natriumsalzen und um Untersuchungen über Brätzusatzmittel aus Natriumacetat, Natriumdiacetat, Kochsalz und Weinsäure.

Untersuchungen über den toxischen Effekt von Essigsäure in Gegenwart von Kochsalz auf verschiedene Keimarten, darunter *Bac. cereus*, führten LEVINE und FELLERS 1940b nach einer bereits im Kapitel V 2. (Essigsäure) beschriebenen Methodik durch, wobei hier die Testkeime in Kontakt mit Essigsäurelösungen gebracht wurden, die 5 % Kochsalz enthielten. Dabei zeigte sich, daß die 5 %ige Salzlösung mit Essigsäurezusatz

gegenüber Sporen und vegetativen Keimen von *Bac. cereus* weniger wirksam waren als wäßrige Essigsäurelösungen gleichen pH-Wertes und gleicher totaler Acidität.

CARLS 1958 führte Untersuchungen durch zur Klärung der Frage, ob mit Hilfe von Milch-, Essig-, Wein- und Zitronensäure, deren Natriumsalze und Kochsalz eine weitgehende Keimhemmung erreicht werden kann und ob diese Stoffe als Darmbehandlungsmittel Verwendung finden können. Als Testkeim benutzte er u.a. einen *Bac. subtilis*-Stamm. Dazu wurden 24 Stunden alte Bouillonkulturen mit Säuren so versetzt, daß eine 1,25 %ige Säurekonzentration erzielt wurde. Der Zusatz an organischen Salzen betrug bei Verwendung eines Teiles ebenfalls 1,25 %, bei Verwendung von 2 Teilen 2,5 %, von 3 Teilen 3,75 %. Die zugesetzten Kombinationen wirkten auf die bewachsenen Nährmedien 24 Stunden lang bei 37°C ein. Anschließend erfolgte eine Abimpfung mit der Öse auf feste Nährmedien, die ebenfalls 24 Stunden bebrütet wurden, danach wurde die Anzahl gewachsener Kolonien beurteilt.

Die Kombinationen wurden hergestellt, indem zu 1 Teil Säure 3 Teile eines Genußsäurensalzes oder 2 Teile eines Genußsäurensalzes mit 1 Teil Kochsalz gegeben wurde. Insgesamt wurden 24 Kombinationen von Säuren mit einem oder zwei Salzen untersucht, wobei die pH-Werte zwischen 4,95 und 3,6 lagen.

Die Untersuchungen zeigten, daß *Bac. subtilis* durch alle Kombinationen im Wachstum unbeeinflusst blieb.

WOLPERTH 1960 untersuchte die keimhemmende bzw. -tötende Wirkung von Brätzusatzmitteln auf verschiedene Mikroorganismen, darunter auch auf *Bac. subtilis*. Die Brätzusatzmittel waren folgendermaßen zusammengesetzt:

- | | |
|------------------------|--------------------------|
| 1.) 70 % Natriumacetat | 2.) 50 % Natriumdiacetat |
| 30 % Kochsalz | 50 % Kochsalz |
| pH 6,45 | pH 4,7 |

- | | |
|------------------------|------------------------|
| 3.) 60 % Natriumacetat | 4.) 30 % Natriumacetat |
| 10 % Weinsäure | 30 % Natriumdiacetat |
| 30 % Kochsalz | 30 % Kochsalz |
| pH 5,1 | pH 4,65 |

Diese Brätzusatzmittel wurden so der Nährbouillon zugegeben, daß die Konzentration der Brätzusatzmittel 5 %, 10 %, 15 % und 20 % betrug. Die Natriumacetatkonzentration betrug demnach bei Zugabe des 1. Zusatzmittels 3,5 - 7,0 - 10,5 und 14 %, die Kochsalzkonzentration 1,5 - 3,0 - 4,5 und 6 %. Bei dem 2. Zusatzmittel war Natriumdiacetat und Kochsalz jeweils in 2,5 - 5,0 - 7,5 - 10 %iger Konzentration in der Nährbouillon vorhanden. Nach Inokulierung mit den Teststämmen erfolgte eine 24stündige Bebrütung bei 37°C. Anschließend wurde je eine Öse Material auf Agarplatten abgeimpft und nach 24 Stunden langer Bebrütung bei 37°C beurteilt. Außerdem wurde der Einfluß der Brätzusatzmittel auf 24 Stunden alte Bouillonkulturen geprüft, wobei eine Abimpfung auf Nähragarplatten sofort nach Zusatz der Mittel, nach 5stündiger und 20stündiger Einwirkungszeit bei 37°C erfolgte. Die Untersuchungen ergaben, daß keines der Brätzusatzmittel in den angegebenen Konzentrationen *Bac. subtilis* abtöten oder auch nur im Wachstum hemmen konnte.

c) Kombination verschiedener Kochsalz- und Pökelfstoffkonzentrationen

HILGERS 1937 führte Pökelungsversuche mit Fleisch durch, das künstlich u.a. auch mit *Bac. subtilis* kontaminiert wurde. Die beimpften Fleischstücke wurden mit Lake übergossen, die einen Salzgehalt von 20° Bé, 3 % Zucker und 2, 4, 6 und 8 Teile Sal-

peter auf 100 Teile NaCl aufwies. Nach 14tägiger Pökellung im Kühlhaus konnte keine bakterizide oder bakteriostatische Wirkung auf *Bac. subtilis* festgestellt werden.

HENRY et al. 1954 untersuchten die Wirkung von Nitrit bei der Fleischkonservierung, wobei einer 5 % Kochsalz enthaltenden Rinderbouillon Kaliumnitrat und Natriumnitrit zugesetzt wurde, und pH-Wert-Einstellung auf Werte zwischen 5,2 und 7,5 erfolgte. Diese Medien wurden mit verschiedenen Bakterienstämmen beimpft. Dabei zeigte sich, daß bei pH 7,5 oder darüber Nitrit deutlich das Wachstum der Testkeime begünstigte, in schwach saurem Milieu - mit einem Optimum zwischen 5,6 und 5,8 - dagegen eine deutliche bakteriostatische Wirkung ausübte.

Aus seinen Untersuchungen über die Faktoren, die die Hemmwirkung von Nitrit auf Bakterien beeinflussen, entwickelte EDDY 1957 die Vorstellung, daß es möglich sein müßte, durch Kombination solcher Faktoren, die einzeln toleriert werden, sogar die vergleichbar resistenten Bazillen in Produkten wie Schinkenkonserven zu hemmen. Solche Faktoren, die erst in Kombination Hemmwirkung haben, sind seiner Meinung nach z.B.: hohe Salzkonzentration, hoher Nitritgehalt, niedriger pH-Wert, suboptimale Temperatur und Sauerstoffabwesenheit.

GRANVILLE und FIEVEZ 1957 überprüften das Überleben verschiedener Bazillenarten in experimentell hergestellten Pökellaken unterschiedlicher Zusammensetzung. Dabei wurden Temperaturen (+ 4°C und 15°C) und pH-Werte (6,9 - 7,5) angewandt, die praktischen Bedingungen entsprechen. Diese Pökellaken wurden mit den verschiedenen Bazillenarten und zwar mit vegetativen Formen und Sporen beimpft. Die Verfasser fanden, daß die vegetativen Formen vieler Bazillenarten sehr schnell verschwanden, ihre Sporen jedoch in allen Fällen überlebten.

BARTH 1960 untersuchte nach der bereits unter Punkt 1 dieses Kapitels (Kombination von Kochsalz und pH) beschriebenen Methodik den Einfluß von Kombinationen verschiedener Kochsalz- und Nitritkonzentrationen und verschiedenen pH-Werten auf Bazillen der "Mesentericus-Subtilis-Gruppe". Er stellte fest, daß nur

noch 1 Stamm der insgesamt 5 Bazillus-Stämme bei 6,9 % NaCl, pH 4,5 und 3,0 % NaNO_2 unter Hemmungserscheinungen wachsen konnte. Die Wachstumsbeeinträchtigung war bei 7,5 % NaCl/pH 4,3/2,0 % NaNO_2 noch stärker, bei 8,5 % NaCl/pH 4,1/2,5 % NaNO_2 war kein Wachstum mehr möglich.

d) Kombination verschiedener pH-Werte und Phosphatkonzentrationen

EL-BISI und ORDAL 1956 stellten fest, daß *Bac. coagulans* auf 10 %igem Tomatensaftagar mit verschiedenen Phosphatpufferkonzentrationen und pH-Werten bei zunehmenden Phosphatkonzentrationen stärkere Empfindlichkeit gegen niedrigere pH-Werte zeigte. Bei 0,5 % KH_2PO_4 im Medium waren Wachstum und Sporulation gut über einen pH-Bereich von 4,5 bis 6,5. Dagegen konnte bei 1 %iger KH_2PO_4 -Konzentration bei pH-Werten unter 5,0 und bei 2 %iger KH_2PO_4 -Konzentration bei pH-Werten unter 6,5 Wachstum nicht mehr festgestellt werden.

GOULD 1964 konnte in Versuchen an *Bac. cereus*, *Bac. subtilis* var. *niger* und *Bac. licheniformis* (Methodik siehe Kapitel V 1. - Kochsalz) feststellen, daß die Hemmwirkung von einem Polyphosphatprodukt ("Natrium-Hexametaphosphat") 1,5 bis 2 mal stärker war bei pH 6,0 als bei pH 7,0.

e) Kombination von Phosphat mit Zitronensäure, Weinsäure und Fäkalstoffen

SAUTER 1958 berichtete über die bakterizide Wirkung eines Darmbehandlungsmittels aus Phosphaten und Zitronensäure. Als Testkeim wählte er u.a. einen *Bac. subtilis*-Stamm und setzte das Darmbehandlungsmittel gleichzeitig mit den Bakterien dem Nährmedium zu. Außerdem wurde das Präparat 24 Stunden alten Bouillonkulturen zugesetzt. Die Einwirkungszeit des Präparates betrug 8, 12 und 24 Stunden, danach wurde 1 Öse Material aus den Bouillonröhrchen entnommen und auf festen Nährmedien ausgestrichen. Dabei zeigte sich, daß das Darmbehandlungsmittel in der vom Hersteller vorgeschriebenen 0,5 %igen Konzentration *Bac. subtilis* nicht abzutöten vermochte, es war lediglich eine Wachstumshemmung in den Röhrchen, denen Kulturmateri-

und das Präparat gleichzeitig zugesetzt wurden, festzustellen. Bei Zusatz des Präparates zu 24 Stunden alten Kulturen zeigte sich kein Einfluß.

DIPPELL 1954 untersuchte ein Darmlakezusatzmittel "Casingol", das aus 35 % Tetranatriumpyrophosphat, 35 % Dextrose und 30 % Weinsäure bestand, auf seine bakterizide Wirkung. Dazu wurde 1 g Darmmaterial in Reagenzgläsern mit einer 1 %igen "Casingol"-Lösung übergossen und 3 Tage stehengelassen, anschließend wurden je 0,1 ml dieser Aufschwemmungen auf Nähragar, Bromthymolblaulaktose-Agar und Blutagar ausgestrichen. Die Bebrütung erfolgte bei Zimmertemperatur und bei + 37°C. Gegenüber den unbehandelten Därmen zeigte sich bei Bebrütung bei 37°C eine Wachstumshemmung unterschiedlichen Ausmaßes von Bazillen der "Mesentericus-Subtilis-Gruppe". Bei Zimmertemperatur wurden diese Keime dagegen vollständig in ihrem Wachstum gehemmt.

ZAKULA 1969a führte Untersuchungen durch über die Hitze-resistenz von Bac. licheniformis-Sporen in zerkleinertem Rind- und Schweinefleisch, dem "Lakeingredienzen" neben Polyphosphatpräparaten zugesetzt worden war. Es konnte gezeigt werden, daß die Hitze-resistenz der Sporen des Testkeimes bei Erhitzung auf 100°C und 110°C in dem Fleisch mit Polyphosphaten etwas erniedrigt war. Dagegen war bei Erhitzungstemperaturen von 121°C kein Unterschied in der Hitze-resistenz bei Fleisch mit Polyphosphatzusatz und Fleisch ohne Polyphosphatzusatz festzustellen.

VI. Einfluß der Feuchtigkeit auf das Wachstum aerober Sporenbildner

Alle Lebensprozesse sind an das Vorhandensein von Wasser gebunden, dabei machen die Mikroorganismen keine Ausnahme (BURCIK 1950, SCOTT 1957). Ihr Wachstum ist nur möglich in wäßrigen Lösungen - unabhängig davon, ob das Substrat flüssig oder fest ist. Demnach ist Wachstum in Abwesenheit von Wasser oder reinem Wasser unmöglich (SCOTT 1957, CHRISTIAN 1963).

Es ist hierbei jedoch nicht der absolute Wassergehalt eines Substrates von Wichtigkeit, sondern die Verfügbarkeit des Wassers für die Mikroorganismen. Das Wasser eines Substrates ist nach FRAZIER 1967 durch folgende Möglichkeiten für Mikroorganismen nicht verfügbar: 1.) gelöste Stoffe und Ionen ziehen Wasser an, deshalb wird durch Zusatz von löslichen Stoffen (z.B. Zucker und Salze) das Substrat getrocknet. Daneben wird den Mikroorganismen durch Osmose Wasser entzogen, 2.) hydrophile Kolloide (Gele) machen das Wasser unverfügbar. Der Autor weist darauf hin, daß aus diesem Grunde schon 3 bis 4 % Agar in einem Medium Wachstum von Mikroorganismen verhindern können, 3.) auch kristallisiertes oder hydratisiertes Wasser ist für Bakterien nicht mehr verfügbar, deshalb können Bakterien gefrorenes Wasser nicht verwerten.

Um die Wasseranforderungen für das Wachstum von Mikroorganismen und den Feuchtigkeitsgehalt von Substraten zu definieren, wurden verschiedene Faktoren herangezogen: 1.) der totale Feuchtigkeitsgehalt eines Substrates, bei dem noch Wachstum von Mikroorganismen möglich ist, 2.) die relative Feuchtigkeit eines Substrates (Verhältnis des tatsächlichen Wasserdampfdruckes zu dem gesättigten Wasserdampfdruck bei derselben Temperatur) (nach MORRIS 1962), 3.) der osmotische Druck eines Substrates (nach MOSSEL und INGRAM 1955), also die Kraft, mit der Wasser oder andere Lösungsmittel durch semipermeable Häute hindurch zu konzentrierteren Lösungen hereingezogen werden (RÖMPP 1962), 4.) die Wasseraktivität (a_w) oder die ausgeglichene relative Feuchtigkeit ("equilibrium relative humidity" e.r.h.) nach BURCIK 1950 (hier allerdings als relative Dampfspannung bezeichnet), MOSSEL und KUIJK 1954, MOSSEL und INGRAM 1955, INGRAM 1957, SCOTT 1957, MORRIS 1962, CHRISTIAN und WALTHO 1962, CHRISTIAN 1963.

Es werden jetzt weitgehend die Wasserbedürfnisse von Mikroorganismen und der Feuchtigkeitsgehalt verschiedener Substrate - und hier von besonderem Interesse Lebensmittel - mit Hilfe der Wasseraktivität bestimmt. Dadurch ergeben sich folgende Vor-
teile:

Die Wasseraktivität bezieht sich auf das Substrat selbst, während sich z.B. die relative Feuchtigkeit auf die Atmosphäre bezieht, die das Substrat umgibt (SCOTT 1957, CHRISTIAN 1963). Außerdem bewirken geringe Änderungen im totalen Feuchtigkeitsgehalt des Substrates während der Lagerung deutliche Unterschiede in der Wasseraktivität. Ferner ist der a_w -Wert, der erforderlich ist, das mikrobielle Wachstum zu verhindern, auf verschiedenen Substraten der gleiche, während der Feuchtigkeitsgehalt weit differieren kann (SCOTT 1957, MORRIS 1962).

Unter dem Terminus Wasseraktivität ("water activity") (a_w) versteht man den Wasserdampfdruck einer Lösung (P) dividiert durch den Wasserdampfdruck des reinen Lösungsmittels (P_o) (im Allgemeinen Wasser), als Formel dargestellt: $a_w = \frac{P}{P_o}$. Wasseraktivität ist zahlenmäßig gleich der relativen Feuchtigkeit dividiert durch 100. Unter gleichen ("equilibrium") Bedingungen sind die beiden Termini gegeneinander austauschbar. Für eine ideale Lösung ist die Wasseraktivität unabhängig von der Temperatur; aber auch der a_w -Wert einer gegebenen Lösung schwankt nur geringgradig in dem Temperaturbereich, in dem mikrobielles Wachstum möglich ist. Der a_w -Wert für reines Wasser ist demnach 1,0, für eine 1,0 molale ideale wässrige Lösung ist er 0,9823 (SCOTT 1957).

Nach SCOTT 1957 müssen bei der Bestimmung der Wasserbedürfnisse von Mikroorganismen zwei Grundbedingungen erfüllt werden: 1.) der a_w -Wert muß bekannt sein, ständig kontrolliert werden und über die gesamte Versuchsdauer konstant bleiben, 2.) um eine gültige Antwort zu bekommen, muß der a_w -Wert in mehr als einem Medium bestimmt werden, um zu klären, ob das Resultat wirklich von der Wasseraktivität abhängt und nicht durch die Konzentration der gelosten Stoffe in dem Substrat bedingt wird.

Zur Kontrolle der Wasseraktivität gibt es folgende Methoden:

1.) Herstellung eines Wasserdampfgleichgewichtes zwischen Testsubstrat und Kontrollösungen ("equilibration method"). Die genaue Kontrolle der Wasseraktivität durch Gleichgewichtseinstellung hängt von der Übereinstimmung der Temperaturen bei

Kontrolllösung und Probe ab. Im Allgemeinen wird eine Temperatur von 20°C gewählt.

2.) Bestimmung der Wassersorptionsisothermen, die eine graphische Darstellung der Beziehung zwischen dem Wassergehalt im Gleichgewicht und der Wasseraktivität bei einer bestimmten Temperatur sind.

3.) Durch Kontrolle der Lösungskonzentration ist es möglich, die Wasseraktivität zu fixieren (SCOTT 1957).

MOSSEL und KUIJK 1954 beschrieben eine Methode zur Messung der relativen Feuchtigkeit im Gleichgewicht mit einer Lithiumchloridzelle, die ursprünglich für die Messung des Taupunktes von Luft entwickelt worden war. Verff. erzielten bei ihren Untersuchungen an Lebensmitteln und Kochsalzlösungen Ergebnisse, die zufriedenstellend mit den Daten, die mit anderen Methoden erzielt worden waren, übereinstimmten. Ein besonderer Vorteil der von den Autoren beschriebenen Methode liegt darin, daß zur Bestimmung der Wasseraktivität eines Substrates wesentlich weniger Zeit benötigt wird.

Ferner sind nach FRAZIER 1967 Gefrierpunktsbestimmungen zur Feststellung der a_w -Werte in flüssigen Lebensmitteln benutzt worden. In festen Lebensmitteln kann der a_w -Wert bestimmt werden mit Hilfe von Filterpapier, das mit verschiedenen Salzen getränkt und getrocknet wurde. Diese Filterpapierstreifen werden mit den Proben in einen geschlossenen Raum gebracht und zeigen den a_w -Wert durch ihren feuchten oder trockenen Zustand an.

Die Wasserbedürfnisse von Bakterien können von folgenden Faktoren beeinflußt werden:

1.) Nährstoffe. Nach MORRIS 1962 und FRAZIER 1967 gilt, daß je besser die Nährbedingungen eines Mediums sind, desto niedriger der für das Wachstum erforderliche a_w -Wert sein kann. Dagegen ist nach SCOTT 1957 und CHRISTIAN und WALTHO 1962 der Grenzwert der Wasseraktivität für mikrobielles Wachstum unabhängig von der Nährstoffversorgung - vorausgesetzt, daß gewisse Min-

destanforderungen an Nährstoffen erfüllt sind.

2.) Temperatur. Nach den Literaturübersichten von SCOTT 1957, MORRIS 1962 und CHRISTIAN 1963 haben Mikroorganismen bei ihren optimalen Wachstumstemperaturen die größte Widerstandsfähigkeit gegen niedrige Wasseraktivitätswerte. Bei nicht optimalen Temperaturen wird der a_w -Bereich, bei dem noch Wachstum möglich ist, eingeschränkt.

3.) Sauerstoff. Nach FRAZIER 1967 findet Wachstum von aeroben Mikroorganismen in Anwesenheit von Sauerstoff bei niedrigeren a_w -Werten statt als unter anaeroben Bedingungen. Das Umgekehrte gilt für anaerobe Mikroorganismen.

4.) pH. Bei pH-Werten nahe dem Wachstumsoptimum sind Mikroorganismen nach der Literaturübersicht von SCOTT 1957 und nach CHRISTIAN 1963 und FRAZIER 1967 am widerstandsfähigsten gegenüber niedrigen a_w -Werten.

5.) Adaptation. BURCIK 1950 fand bei seinen Untersuchungen, daß der Minimum- a_w -Wert für verschiedene Bakterienarten bemerkenswert konstant blieb über eine Periode von 8 Jahren. Auch SCOTT 1957 fand in eigenen Untersuchungen und nach seinem Literaturstudium keine Hinweise auf Adaptation, jedoch müssen seiner Meinung nach noch mehr Untersuchungen durchgeführt werden, um diese Frage eindeutig zu klären.

MORRIS 1962 weist darauf hin, daß, wenn mikrobielles Wachstum in relativ trockenem Material erst einmal begonnen hat, die Wachstumsrate der Mikroorganismen danach schnell ansteigt, weil durch die metabolischen Prozesse Wasser gebildet wird.

Aus den Ausführungen geht hervor, daß in Lebensmitteln durch Herabsetzung der Wasseraktivität mikrobielles Wachstum eingeschränkt oder ausgeschlossen werden kann.

Eine Erniedrigung der Wasseraktivität von Lebensmitteln ist möglich durch Dehydrierung, Salzen oder Zuckern und Einfrieren (CHRISTIAN 1963). Durch diese Maßnahmen wird entweder der absolute Wassergehalt gesenkt oder das im Lebensmittel enthaltene Wasser ist für die Mikroorganismen zum großen Teil nicht mehr verfügbar ("unavailable").

Folgende Grenzwerte der Wasseraktivität, bei der noch mikrobielles Wachstum möglich ist, werden von den verschiedenen Autoren angegeben:

BURCIK 1950 fand als Minimum- a_w -Werte (nach SCOTT 1957 wurde der von BURCIK benutzte Terminus "relative Dampfspannung" der ausgeglichenen relativen Feuchtigkeit gleichgesetzt und daraus die Wasseraktivität errechnet) für Bakterien 0,90, für Hefen 0,88.

Nach MOSSEL und INGRAM 1955 liegt das a_w -Minimum bei 0,91 für normale (nicht halophile Bakterien), bei 0,88 für normale (nicht osmophile) Hefen und bei 0,80 für normale (nicht xerophile) Pilze. Mikrobielles Wachstum ist nach SCOTT 1957 möglich in einem a_w -Bereich von 0,999 bis 0,62. Innerhalb dieser Grenzen hat jeder Mikroorganismus einen eigenen, charakteristischen Bereich, in welchem er wachsen kann.

Einige Autoren untersuchten die Wasseraktivität, bei der noch Wachstum von aeroben Sporenbildnern möglich war:

BURCIK 1950 benutzte bei seinen Untersuchungen folgende Methodik:

Über Kochsalzlösungen mit einem bestimmten Dampfdruck befand sich in einer geschlossenen Kammer (Glasschälchen) der Nährbodentropfen mit den zu prüfenden Mikroorganismen (u.a. *Bac. subtilis*, *Bac. cereus* var. *mycoides*, "*Bac. mesentericus*" und als *Bac. asterosporus* bezeichnete Stämme). Wachstumsgrenzen bildeten für diese Species folgende a_w -Werte: *Bac. subtilis* 0,954; *Bac. cereus* var. *mycoides* 0,990 bis 0,970; "*Bac. mesentericus*" 0,955; "*Bac. asterosporus*" 0,985. Ferner führte der Autor Versuche durch, wobei Kochsalz dem Nährsubstrat zugesetzt wurde. Dabei zeigten seine Versuche ziemlich gute Übereinstimmung zwischen den auf äquilibrierten Medien und den auf Agar oder in Bouillon, die mit Kochsalz auf verschiedene a_w -Werte eingestellt waren, erzielten Resultaten. Bei *Bac. cereus* var. *mycoides* trat bei einem a_w -Wert von 0,985 (Bouillon) bzw. 0,965 (Agar) noch Wachstum auf (gegenüber 0,990 bei diesem Stamm im äquilibrierten Medium). Bei *Bac. subtilis* lagen da-

gegen die Grenzwerte für die Salz-Serien um einen a_w -Wert von etwa 0,02 in Bouillon und 0,005 im Agar höher als die der feuchten Kammern.

Nach CHRISTIAN 1963 haben viele Bacillus-Species Wachstumsgrenzen bei a_w -Werten um 0,90.

RIEMANN 1963 gibt als a_w -Grenzwerte für die Sporenauskeimung 0,96 bis 0,98 an - das entspricht einer Kochsalzkonzentration in Pökellaken von 6,7 bis 3,5 % - und als Grenz- a_w -Werte für das Wachstum 0,93 bis 0,94 (entsprechend einer Pökellakenkonzentration von 11 bis 9,7 % Kochsalz).

Nach FRAZIER 1967 liegt die Wachstumsgrenze für Bac. subtilis bei einem a_w -Wert von 0,95.

MOSSEL und van KUIJK 1954 errechneten die Wasseraktivität von Kochsalzkonzentrationen, die nach Literaturangaben das Wachstum verschiedener lebensmittelverderbender Mikroorganismen hemmten. Für aerobe Sporenbildner ergab sich danach Folgendes:

Autor	Hemmung durch NaCl	
	Konzentration in %	entspricht a_w -Wert
CURRAN 1931	5,5	0,96
KARAFFA-KORBUTT 1912	9 - 12	0,94 - 0,91
PETTERSON 1900	10 - 15	0,93 - 0,88
HOROWITZ-WLASSOWA 1931	10 - 16	0,93 - 0,87
SCHÖNBERG und WALZ 1954	15	0,88

Die von verschiedenen Autoren ermittelten Wasseraktivitätswerte von Kochsalzlösungen verschiedener Konzentration sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengefaßt:

Autor	Kochsalzkon- zentration	Temperatur	a _w -Wert
MOSSEL und van KUIJK 1954	gesättigte Lösung	20 - 25°C	0,750
WEXLER und HASEGAWA 1954	gesättigte Lösung	0°C	0,749
		5°C	0,751
		10°C	0,752
		15°C	0,753
		20°C	0,755
		25°C	0,758
		30°C	0,756
		35°C	0,755
		40°C	0,754
		45°C	0,751
		50°C	0,747
SCOTT 1955	4 %	25°C	0,9765
	5 %		0,9702
	6 %		0,9637
	7 %		0,9571
	8 %		0,9501
INGRAM 1957	3,4 %	25°C	0,98
	7,96 %		0,95
	14,2 %		0,90
	19,06 %		0,85
	23,1 %		0,80

VII Einfluß bestimmter fleischtechnologischer Verfahren auf das Wachstum aerober Sporenbildner

1.) Hitze

Schon durch Temperaturen leicht oberhalb der maximalen Wachs-

tumsgrenze wird das Absterben vegetativer Formen und sporenloser Mikroorganismen verursacht (STUMBO 1965). Im Allgemeinen reichen Temperaturen von 62 bis 63°C mit einer Einwirkungs-⁰dauer von 20 bis 30 Minuten aus, um die meisten vegetativen Formen abzutöten. Zur Abtötung thermophiler Bakterien und vor allem von Bazillensporen müssen dagegen wesentlich höhere Temperaturen angewandt werden (MORRIS 1962).

Nach JAWETZ et al. 1963 wirkt Hitze durch Koagulation der Zellproteine und durch Zerstörung der Zellstrukturen. Es ist jedoch der Wirkungsmechanismus der Hitze noch nicht bei den Fällen geklärt, in denen nur die empfindlicheren Zellen abgetötet werden.

KOTTER und TERPLAN 1958 berichten, daß trockene Proteine hitzeresistenter sind als wasserhaltige. Das in wasserhaltigen Proteinen eingeschlossene oder in gebundener Form vorliegende Wasser erhöht die durch Wärme hervorgerufenen Schwingungen, welche das Zerreißen der Peptidketten erleichtern.

Als Kriterium für die Abtötung durch Hitze wird allgemein das Unvermögen der Mikroorganismen, sich zu vermehren, genommen. Bei Untersuchungen über die Hitzeresistenz von Mikroorganismen stellte sich heraus, daß die Anzahl lebensfähiger - d.h. also vermehrungsfähiger - Zellen exponentiell mit der Zeit, während der die Hitze einwirkte, abnahm (STUMBO 1965). Die Ursache dieser exponentiellen Abnahme ist noch nicht geklärt, jedoch ermöglicht diese Tatsache, Todesraten zu errechnen, mit deren Hilfe die Hitzeresistenz verschiedener Species bei derselben Temperatur oder die Hitzeresistenz einer Species bei verschiedenen Temperaturen miteinander verglichen werden können. Daneben können auch die Einflüsse von Umgebungsfaktoren auf die Hitzeresistenz quantitativ erfaßt werden (zitiert nach STUMBO 1965).

Zur Bestimmung der Hitzeresistenz von Mikroorganismen und ihren Sporen wurde der D-Wert eingeführt (decimal reduction time), welcher die Zeit in Minuten bedeutet, die nötig ist, um bei einer beliebigen, jeweils gewählten Temperatur 90 % der Zellen abzutöten (STUMBO 1965). Unter dem F-Wert versteht

man die Zeit in Minuten, die erforderlich ist, um alle Zellen bei 121, 1°C (oder 250°F) abzutöten (MORRIS 1962).

Die Hitzeresistenz von Mikroorganismen ist von folgenden Faktoren abhängig (zitiert nach STUMBO 1965):

- 1.) Erbliche Resistenz
- 2.) Umwelteinflüsse während Wachstum und Sporulation
- 3.) Umwelteinflüsse während der Erhitzung.

Die genetisch bedingte Resistenz variiert nicht nur mit den Species, sondern auch mit verschiedenen Stämmen derselben Species.

Bei Untersuchungen über den Einfluß des Sporulationsmediums auf die Hitzeresistenz von Bakterien fand CURRAN 1952, daß die in Erde oder Getreide gewachsenen Bazillen eine größere Hitzeresistenz aufwiesen als die auf Labormedien gezüchteten Keime. Die Untersuchungen von EL-BISI und ORDAL 1956 zeigten, daß die Hitzeresistenz in den meisten Fällen nicht durch die Zusammensetzung des Sporulationsmediums oder seinen pH-Wert beeinflußt wurde. Dagegen beobachtete WILLIAMS 1929 weite Variationen in der Hitzeresistenz von *Bac. subtilis*-Sporen, die in Medien von verschiedenen Zusammensetzungen gewachsen waren. Nach STUMBO 1965 sollte deshalb die Hitzeresistenz von Sporen, die auf Labormedien erzeugt wurden, wegen eines möglichen Einflusses der Sporulationsmedien vorsichtig beurteilt werden.

Über die Beeinflussung der Hitzeresistenz von Mikroorganismen durch die Zusammensetzung des Erhitzungsmediums wurde in den Kapiteln IV und V 1-5 bereits hingewiesen. Die wichtigsten Faktoren, die beim Zusatz zum Erhitzungsmedium Änderungen in der Hitzeresistenz hervorrufen können, sind: 1.) pH-Wert, 2.) Kochsalzkonzentrationen, 3.) Konzentration von Zuckern und anderen Kohlenhydraten, 4.) Konzentration von Fetten und Proteinen, 5.) Menge der Pökelfstoffe und hierbei besonders von Natriumnitrit, 6.) Wassergehalt (KOTTER und TERPLAN 1958, STUMBO 1965).

Wichtig für die Praxis der Konservenherstellung ist besonders die Konzentration von Fetten und Proteinen, da die Mikroorganismen durch Einschluß in Fett- und Eiweißstoffe weitgehend gegen die Hitze einwirkung geschützt werden können (zitiert nach LERCHE et al. 1957, ZAKULA 1969b).

Ferner ist für den Abtötungseffekt die Anzahl der Mikroorganismen von Bedeutung (LERCHE et al. 1957, KOTTER und TERPLAN 1958, MORRIS 1962), denn als Folge der logarithmischen Abtötungsrate muß eine umso längere Erhitzungszeit angewendet werden, je stärker die Keimkontamination ist.

Das Alter der Mikroorganismen soll nach einigen Autoren einen Einfluß auf die Hitzeresistenz haben, jedoch kann nach der Literaturübersicht von STUMBO 1965 diese Frage noch nicht endgültig beurteilt werden.

Im Folgenden werden einige Literaturangaben über die Hitzeresistenz aerober Sporenbildner zitiert. Für die Konservenherstellung sind von dieser Gattung von besonderem Interesse *Bac. stearothermophilus* und *Bac. coagulans* - von einigen Autoren als *Bac. thermoacidurans* bezeichnet - wegen der besonders hohen Hitzeresistenz ihrer Sporen.

YOULAND und STUMBO 1953 fanden folgende D-Werte bei der Erhitzung verschiedener Sporenmengen von *Bac. thermoacidurans* (*Bac. coagulans*):

	Sporenanzahl			
	121	1212	12120	121200
D _{104,4}	1,64	1,83	1,70	1,71
D _{107,2}	0,85	0,89	0,88	0,92
D ₁₁₀	0,352	0,334	0,276	0,344
D ₁₁₂	0,177	0,181	0,173	0,190

Nach MORRIS 1962 können Sporen durch 3 Stunden langes Kochen in Wasser oder 90 Minuten lange Einwirkung von 150°C (trockene Hitze) abgetötet werden.

RIEMANN 1963 gibt an, daß Bazillussporen in Luncheon-Meat bei Einwirkung von $121,1^{\circ}\text{C}$ in 0,2 bis 0,6 Minuten zerstört werden (= F-Wert).

Bac. stearothermophilus wird nach den Angaben von STUMBO 1965 in schwach sauren Lebensmitteln (pH-Werte über 4,5) bei Anwendung von F-Werten = 4,0 - 5,0 abgetötet.

BRIGGS 1966 fand folgende D-Werte bei Erhitzung von Sporen in wäßriger Suspension:

	D ₁₀₀	D ₁₁₅
Bac. cereus	5,5	0,13
Bac. licheniformis	13,5	0,065
Bac. megaterium	1,0	0,025
Bac. pantothenicus	7,3	0,28
Bac. stearothermophilus	3 000	22,6
Bac. subtilis	11,3	0,11

Bei seinen Untersuchungen an 45 Bacillus-Stämmen fand SCHEIBNER 1967, daß alle Stämme bei 30 Minuten langer Einwirkung von 110°C inaktiviert wurden. Bac. licheniformis und Bac. coagulans wurden bei 30 Minuten langer Erhitzung auf $107,5^{\circ}\text{C}$ inaktiviert, Bac. licheniformis auch bei 90 Minuten langer Erhitzung im Dampftopf.

2.) Kälte

Niedrige Temperaturen werden bei der Nahrungsmittellagerung angewandt, um chemische Reaktionen und Wirkung der im Lebensmittel enthaltenen Enzyme zu verzögern und Wachstum und enzymatische Aktivität von Mikroorganismen zu unterdrücken oder gänzlich zu verhindern. Wenn die Temperatur niedrig genug ist, können Wachstum und enzymatische Aktivität von jedem beliebigen Mikroorganismus verhindert werden (FRAZIER 1967). Jedoch werden in Temperaturbereichen, in denen mikrobielles Wachstum nicht mehr möglich ist, nicht immer bereits gebildete Toxine und Enzyme inaktiviert (MORRIS 1962).

Die Kältetoleranz von Mikroorganismen hängt von verschiedenen Faktoren ab (FRAZIER 1967): 1.) von genetischen Faktoren (Gat-

tungs-, Species- oder Arteigenschaften), 2.) von der Wachstumsphase, in der sich die Mikroorganismen befinden, 3.) von der Temperatur, die während des Einfrierens und Lagerns einwirkt, 4.) von der Zeit der Lagerung und 5.) von der Art des Lebensmittels, wobei nach MORRIS 1962 vor allem Fette und Zucker die Mikroorganismen gegen Kälteeinwirkung schützen. Ferner ist der pH-Wert des Mediums von Bedeutung, da in saurer Umgebung die Kälteresistenz herabgesetzt wird.

Wachstum von Mikroorganismen ist nicht möglich in einem vollständig gefrorenen Lebensmittel. Das Frieren ist jedoch ein gradueller Prozeß, der folgendermaßen abläuft (INGRAM 1951, MOSSEL und INGRAM 1955, CHRISTIAN 1963, MICHENER und ELLIOTT 1964): Beim Erreichen des Gefrierpunktes bilden sich aus der wäßrigen Phase Eiskristalle. Dadurch steigt in dem verbleibenden, nicht gefrorenen Wasser die Konzentration der gelösten Stoffe, die Folge ist eine Erhöhung des osmotischen Druckes, eine damit im Zusammenhang stehende Erniedrigung der Wasseraktivität (siehe Kapitel VII der Literaturübersicht) und eine Erniedrigung des Gefrierpunktes. Erst wenn genügend Wasser als Eis dem Medium entzogen wurde, so daß ein Eutektikum entsteht, ist das Substrat vollständig gefroren. So lange jedoch noch eine ungefrorene wäßrige Phase vorhanden ist, kann mikrobielles Wachstum auch bei Temperaturen unter 0°C auftreten, wobei jedoch zu berücksichtigen ist, daß die Lag-Periode bei niedrigen Temperaturen extrem lang werden kann (MICHENER und ELLIOTT 1964). So ist nach MOSSEL und INGRAM 1955 mikrobiell bedingtes Verderben von Lebensmitteln bis zu Temperaturen um -7°C möglich; nach SCHMIDT-LORENZ 1970 ist erst bei -18°C mit ziemlicher Sicherheit eine Vermehrung von Mikroorganismen auszuschließen.

BERRY und MAGOON 1934 und MORRIS 1962 berichten, daß Temperaturen zwischen -2°C und -4°C (nach der Literaturübersicht von SCHMIDT-LORENZ 1970 Temperaturen von mehr als -10°C) eine stärkere Abtötung von Mikroorganismen hervorrufen als beträchtlich tiefere Temperaturen um -20°C . Eine vollständige Zerstörung von Mikroorganismen durch Kälte konnte jedoch nach der

Literaturübersicht von BERRY und MAGOON 1934 erst bei extrem tiefen Temperaturen (bis $- 252^{\circ}\text{C}$) erreicht werden. Auch durch abwechselndes Gefrieren und Auftauen kann keine vollständige Destruktion der Mikroorganismen hervorgerufen werden (BERRY und MAGOON 1934, FRAZIER 1967).

Über die Kältetoleranz aerober Sporenbildner fanden sich folgende Angaben:

Während BALDENIUS 1954, SCHONBERG und WALZ 1954 und SCHEIBNER 1965 bei Temperaturen zwischen $+ 12$ und $+ 14^{\circ}\text{C}$ kein oder nur sehr schwaches Wachstum von Keimen der "Mesentericus-Subtilis-Gruppe" feststellten, fanden REED und REYNOLDS 1916 bei ihren Untersuchungen über den Einfluß niedriger Temperaturen auf Wachstum und enzymatische Aktivität von Bakterien in Milch, daß bei Temperaturen von $- 1^{\circ}\text{C}$ neben gramnegativen Keimarten auch *Bac. subtilis* noch wachsen konnte.

HAINES 1938 stellte fest, daß vegetative Formen und Sporen von "*Bac. mesentericus*" und Sporen von *Bac. cereus* und *Bac. megaterium* durch rasches Einfrieren auf $- 70^{\circ}\text{C}$ und Auftauen nahezu unbeeinflußt blieben. MORRIS 1962 gibt an, daß neben Mikrokokken, Flavobakterien, *Pseudomonas*-Arten und faekalen Streptokokken auch Bakteriensporen gegen niedrige Temperaturen resistent sind.

Nach der Literaturübersicht von MICHENER und ELLIOTT 1964 keimen Bakteriensporen manchmal bei Temperaturen aus, die unter ihrem Wachstumsminimum liegen. So keimten Sporen von *Bac. subtilis* und *Bac. cereus* zwar bei $+ 8$, $+ 5$ und wahrscheinlich auch $\pm 0^{\circ}\text{C}$, nach anderen Angaben für *Bac. cereus* auch bei $- 3$ und $- 6^{\circ}\text{C}$, konnten sich jedoch nicht vermehren.

LARKIN und STOKES 1966 konnten aus Erde, Schlamm und Wasser 90 psychrophile *Bacillus*-Stämme isolieren, die in einer Nährbouillon bei 0°C innerhalb von 2 Tagen sichtbares Wachstum zeigten. 20 der isolierten Stämme wurden differenziert, sie gehörten zur *Bac. pantothenicus*- *Bac. sphaericus*-Subgruppe, zur *Bac. megaterium*- *Bac. cereus*-Gruppe und zur *Bac. subtilis*- *Bac. pumilus*-Subgruppe. LARKIN 1967 berichtete über die Diffe-

renzierung weiterer psychrophiler Bacillus-Stämme, die sich so deutlich von den mesophilen Bacillus-Species unterschieden, daß ihre Bezeichnung als neue Bacillus-Species nötig war. FRAZIER 1967 gibt an, daß alle Sporen von Bac. megaterium einen Gefrierprozeß, bei dem in weniger als 15 Sekunden - 70°C erreicht wurden, überlebten.

C Eigene Untersuchungen

In eigenen Untersuchungen sollte der Einfluß verschiedener Konzentrationen von Kochsalz, Natriumacetat und Natriumdiacetat und verschiedener pH-Werte auf die Vermehrungsfähigkeit von Sporen dreier aerob wachsender *Bacillus*-Arten untersucht werden. Dabei sollte die Wirksamkeit der Salze und verschiedener pH-Werte als Einzelkomponenten geprüft und die Frage untersucht werden, ob durch Zweifachkombinationen (Kochsalz/pH-Werte, Kochsalz/Acetate, Kochsalz/Diacetate) und Dreifachkombinationen (Kochsalz/Acetate/pH, Kochsalz/Diacetate/pH) eine Verstärkung der Hemmwirkung zu erreichen ist.

I Material

Für die Untersuchungen wurden folgende, von Fleischerzeugnissen isolierte *Bacillus*-Arten ausgewählt: *Bac. cereus*, *Bac. subtilis* und *Eac. circulans*. Die Differenzierung erfolgte nach der grundlegenden Arbeit von SMITH, GORDON und CLARK 1950 unter Berücksichtigung neuerer Arbeiten (KELCH 1961, KUNDRAT 1963), anhand von Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (BREED et al. 1957).

Folgende Salze wurden verwendet:

- 1.) Natriumchlorid (NaCl) krist. reinst (Natriumchloratum cryst. puriss.), Mol. Gewicht 58,44, der Firma Merck, Darmstadt.
- 2.) Natriumacetat ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$), Natrium aceticum anhydricum, Mol. Gewicht 82,04, der Firma Merck, Darmstadt.
- 3.) Natriumdiacetat ($\text{CH}_3\text{COOH} \cdot \text{CH}_3\text{-COONa}$) = saures Natriumacetat, des Handels. Es entsprach den Vorschriften der Anlage zur Fleischverordnung.

Das als Grundmedium verwendete Caseinpepton-Hefeextrakt-Dextrose-Agarmedium wurde nach folgender Rezeptur hergestellt:

Caseinpepton (Oxoid L 42)	5,0 g
Hefeextrakt (Oxoid L 20)	2,5 g
Dextrose (Merck)	1,0 g
Agar	20,0 g
Aqua dest.	1 000,0 g

Der pH-Wert stellte sich auf etwa 7,0 ein, er wurde nur korrigiert, wenn die Wirkung verschiedener pH-Werte untersucht werden sollte, hierbei erfolgte die pH-Wert-Einstellung mit 10 %iger Milchsäure.

Zur pH-Wert-Messung stand ein Hauptner Elektrometer Typ GV IB Katalog Nr. 202 601 mit einer Skaleneinteilung von 1/10 pH zur Verfügung.

II Methodik

Der Einfluß der genannten Salze und verschiedener pH-Werte auf Auskeimungs- und Vermehrungsfähigkeit von Sporen der Teststämme wurde mit Hilfe von Sporensuspensionen überprüft, wobei als Wachstumskriterium Koloniebildung auf dem Nährmedium herangezogen wurde. Es wurde dabei von der Voraussetzung ausgegangen, daß jede vermehrungsfähige Spore auskeimt, sich teilt und zu einer sichtbaren Kolonie heranwächst. Die Zahl der Kolonien auf dem Nährmedium entsprach danach der Zahl der vermehrungsfähigen Sporen.

1.) Herstellung von Sporensuspensionen

Die drei Bazillusarten wurden jeweils auf Caseinpepton-Hefeextrakt-Dextrose-Agarplatten überimpft und 7 Tage lang bei + 30°C bebrütet. Die nach dieser Zeit nahezu vollständig eingetretene Versporung wurde anhand von nach Gram gefärbten Objektträgerpräparaten überprüft. Die versporteten Bazillenkulturen wurden unter sterilen Kautelen mit Aqua dest. abgeschwemmt, in die Aufsatzgefäße eines Homogenisators (Cenco Waring Blendor) abgefüllt und zur Abtötung verbliebener vegetativer Formen 20 Minuten bei 80°C im Wasserbad erhitzt. Die so gewonnenen Sporensuspensionen wurden im Cenco Waring Blendor 30 Sekunden bei

12 100 Umdrehungen/Min. und 30 Sekunden bei 16 200 Umdrehungen/Min. homogenisiert. Anschließend erfolgte die Sporenwaschung, wobei die Sporensuspensionen 5 Minuten lang bei 3 000 Umdrehungen/Min. zentrifugiert, die Überstände abgekippt und die Suspensionen mit sterilem Aqua dest. aufgefüllt wurden. Nach 6maligem Wiederholen dieses Vorganges wurden die Sporensuspensionen in Erlenmeyerkolben mit Glasperlen bei + 4°C aufbewahrt. Alle Versuche wurden mit Verdünnungen aus diesen Grundsuspensionen durchgeführt. Mit Hilfe von Keimzählungen auf Caseinpepton-Hefeextrakt-Dextrose-Agar im Oberflächenverfahren konnten die Sporenzahlen pro ml Grundsuspension ermittelt und durch weitere Verdünnungen mit Aqua dest. Sporensuspensionen auf eine Dichte von etwa 4 000/ml eingestellt werden. Mit diesen so eingestellten, verdünnten Sporensuspensionen wurden die Versuche durchgeführt.

2.) Versuchsdurchführung

Nach Herstellung des Grundnährmediums Caseinpepton-Hefeextrakt-Dextrose-Agar nach Gebrauchsanweisung wurden die Salze in den jeweiligen Konzentrationen zugesetzt, wobei der pH-Wert nicht eingestellt wurde, bzw. die zu untersuchenden pH-Wert-Stufen mit 10 %iger Milchsäure eingestellt wurden. Nach der Sterilisation (3/4 Stunde) im Dampftopf wurden je 15 ml der Nährmedien in Petrischalen ausgegossen. Nach etwa 15stündiger Trocknung der Nährmedien im Brutschrank bei + 30°C (nach Vorversuchen hatte sich diese Maßnahme als die günstigste zur Verhinderung von Riesenkoloniebildung und Überwuchern der Nährmedien erwiesen) wurden sie folgendermaßen beimpft: Die verdünnten, in Erlenmeyerkolben mit Glasperlen bei + 4°C aufbewahrten Sporensuspensionen wurden vor jeder Entnahme gründlich durchgemischt durch 10 Sekunden langes Schütteln in und 10 Sekunden langes Schütteln gegen die Uhrzeigerrichtung. 0,05 ml der Suspensionen (etwa 200 Sporen) wurden auf die Nährmedien pipettiert und sofort gleichmäßig mit Drigalskispateln auf der Oberfläche der Nährmedien verteilt. Die Bebrütung erfolgte 3 Tage lang bei + 30°C. Nach Ablauf der Bebrütungszeit wurden die gewachsenen

Kolonien ausgezählt. Pro Versuch und Teststamm wurden 10 Parallelplatten beimpft. Daneben wurden an jedem Versuchstag Kontrollen angelegt, indem je Teststamm 10 Caseinpepton-Hefeextrakt-Dextrose-Agarplatten ohne Zusätze und ohne pH-Wert-Korrektur auf die oben beschriebene Weise beimpft und bebrütet wurden.

pH-Wert-Messungen erfolgten bei unbeimpften Nährmedien zur Zeit der Beimpfung an 3 parallelen Platten jeder Salzkonzentration bzw. pH-Wert-Einstellung (um den Einfluß der zugesetzten Salze auf den pH-Wert des Mediums festzustellen bzw. bei eingestelltem pH-Wert die Einstellung zu überprüfen) und nach Ablauf der Bebrütungszeit (3 Tage bei + 30°C), um möglicherweise nährmedienbedingte pH-Wert-Änderungen zu erfassen. Durch die Bebrütung wurde gleichzeitig die Sterilität der Nährmedien überprüft.

Folgende Salzkonzentrationen, pH-Werte und Kombinationen wurden geprüft:

a) Einzelfaktoren

a₁) pH-Werte:

4,2; 4,6; 5,0; 5,2; 5,5; 5,8; 6,0; 6,2; 6,6; 7,0

a₂) Kochsalz:

1,0 %; 2,0 %; 3,0 %; 5,0 %; 7,0 %; 8,0 %; 9,0 %;
10,0 %; 12,0 %; 15,0 %

a₃) Natriumacetat:

0,3 %; 0,5 %; 1,0 %; 2,0 %; 3,0 %; 4,0 %; 5,0 %;
6,0 %; 7,0 %; 8,0 %

a₄) Natriumdiacetat:

0,01 %; 0,03 %; 0,05 %; 0,06 %; 0,07 %;
0,08 %; 0,1 %; 0,12 %.

b) Zweifachkombinationen

b₁) Kombinationen verschiedener Kochsalzkonzentrationen und pH-Werte:

- 1 % Kochsalz mit pH 4,5; 5,0; 5,5; 6,0
- 2 % Kochsalz mit pH 4,5; 5,0; 5,5; 6,0
- 3 % Kochsalz mit pH 4,5; 5,0; 5,5; 6,0
- 5 % Kochsalz mit pH 4,5; 5,0; 5,5; 6,0.

b₂) Kombinationen verschiedener Kochsalz- und Natriumacetat-konzentrationen:

- 1 % Kochsalz mit 0,3 %; 0,5 %; 1,0 %; 2,0 %; 4,0 %;
6,0 %; 8,0 % Natriumacetat
- 2 % Kochsalz mit 0,3 %; 0,5 %; 1,0 %; 2,0 %; 4,0 %;
6,0 %; 8,0 % Natriumacetat
- 3 % Kochsalz mit 0,3 %; 0,5 %; 1,0 %; 2,0 %; 4,0 %;
6,0 %; 8,0 % Natriumacetat
- 5 % Kochsalz mit 2,0 %; 4,0 %; 6,0 %; 8,0 %
Natriumacetat

b₃) Kombinationen verschiedener Kochsalz- und Natriumdiacetat-konzentrationen:

- 1 % Kochsalz mit 0,06 %; 0,08 %; 0,10 % Natriumdiacetat
- 2 % Kochsalz mit 0,06 %; 0,08 %; 0,10 % Natriumdiacetat
- 3 % Kochsalz mit 0,06 %; 0,08 %; 0,10 % Natriumdiacetat
- 5 % Kochsalz mit 0,06 %; 0,08 %; 0,10 % Natriumdiacetat

c) Dreifachkombinationen

c₁) Kombination verschiedener Kochsalz- und Natriumacetat-konzentrationen mit pH 5,5 und 6,0:

- 1 % Kochsalz mit 0,5 %; 1,0 %; 2,0 %; 3,0 %; 4,0 %
Natriumacetat bei pH 5,5 und 6,0
- 2 % Kochsalz mit 0,5 %; 1,0 %; 2,0 %; 3,0 %; 4,0 %
Natriumacetat bei pH 5,5 und 6,0
- 3 % Kochsalz mit 0,5 %; 1,0 %; 2,0 %; 3,0 %; 4,0 %
Natriumacetat bei pH 5,5 und 6,0
- 5 % Kochsalz mit 1,0 %; 2,0 %; 3,0 %; 4,0 %
Natriumacetat bei pH 5,5 und 6,0

c₂) Kombination verschiedener Kochsalz- und Natriumdiacetat-konzentrationen mit pH 5,5 und 6,0:

1 % Kochsalz mit 0,06 %; 0,08 % Natriumdiacetat bei pH 5,5 und 6,0

2 % Kochsalz mit 0,06 %; 0,08 % Natriumdiacetat bei pH 5,5 und 6,0

3 % Kochsalz mit 0,06 %; 0,08 % Natriumdiacetat bei pH 5,5 und 6,0

5 % Kochsalz mit 0,06 %; 0,08 % Natriumdiacetat bei pH 5,5 und 6,0

3.) Statistische Auswertung der Ergebnisse

Zunächst wurde das arithmetrische Mittel $\bar{x}$ der Koloniezahlen der auswertbaren Parallelplatten für jeden Versuch und Teststamm errechnet nach folgender Formel:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad \text{wobei } x_i \text{ die ausgezählte Koloniezahl je Platte und } n \text{ die Anzahl der Parallelplatten ist.}$$

Danach erfolgte die Errechnung der prozentualen Koloniezahl-abnahme, indem der Mittelwert $\bar{x}_1$ des Versuches auf den Mittelwert $\bar{x}_0$ der Kontrollen bezogen wurde (Reduktion in Prozent = $\frac{\bar{x}_1}{\bar{x}_0} \cdot 100$).

Die Standardabweichung in Prozent (s_p) wurde nach folgender Formel errechnet:

$$s_p = \sqrt{\frac{Q}{n-1} \cdot 100} \cdot \frac{1}{\bar{x}_0}$$

$$\text{wobei } Q = \sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n}$$

n = Anzahl der Parallelplatten

$\bar{x}_0$ = Mittelwert der Koloniezahlen der Kontrollplatten ist.

Die Prüfung der Signifikanz von Unterschieden zwischen den Mittelwerten der Koloniezahlen der Versuche und den Mittelwerten der Koloniezahlen der Kontrollen wurde mit Hilfe des t-Tests nach folgender Formel durchgeführt:

$$t = \frac{\bar{x}_0 - \bar{x}_1}{\sqrt{\frac{n_0 + n_1}{\frac{n_0}{n_0 - 1} + \frac{n_1}{n_1 - 1}} \cdot \frac{Q_0 + Q_1}{n_0 + n_1 - 2}}}$$

wobei $\bar{x}_0$ = Mittelwert der Koloniezahlen
der Kontrollen

$\bar{x}_1$ = Mittelwert der Koloniezahlen
des Versuches

n_0 = Anzahl der Parallelplatten
der Kontrollen

n_1 = Anzahl der Parallelplatten
des Versuches

$$Q_0 = \sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n} \quad (\text{Kontrollen})$$

$$Q_1 = \sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n} \quad (\text{Versuch})$$

ist.

Auch die Prüfung der Signifikanz von Unterschieden zwischen prozentualer Koloniezahlabnahme durch Salz- oder pH-Einzelwirkung gegenüber der prozentualen Koloniezahlabnahme durch Zweifach- und Dreifachkombinationen und zwischen Zweifach- und Dreifachkombinationen wurde mit Hilfe des t-Tests durchgeführt. Dazu wurde folgende Formel benutzt:

$$t = \frac{p_1 - p_2}{\sqrt{s_{p_1}^2 + s_{p_2}^2}}$$

wobei p_1 und p_2 die prozentuale Koloniezahlabnahme gegen-
über den jeweiligen Kontrollen und
 s_{p_1} und s_{p_2} die Standardabweichung in Prozent sind.

Als signifikant wurden Unterschiede beurteilt, bei denen der
t-Test eine Irrtumswahrscheinlichkeit gleich 5 % oder kleiner
ergab.

III Ergebnisse

Die Ergebnisse der Wirksamkeitsprüfung der pH-Werte und Salzkonzentrationen in Einzelwirkung und Kombination auf die Wachstumsfähigkeit der 3 Teststämme werden beschrieben und außerdem in Tabellen zusammengefaßt. In den Tabellen 4 bis 12 sind aufgeführt: die eingestellten pH-Werte und die untersuchten Salzkonzentrationen in % (Spalte 1), die pH-Werte der Nährmedien bei der Beimpfung mit den Teststämmen (Spalte 2a "vor Bebrütung") und nach Ablauf der Bebrütungszeit (Spalte 2b "nach Bebrütung"), der Mittelwert ($\bar{x}$) der ermittelten Koloniezahlen jedes Teststammes (Spalten 3a, 4a, 5a), die prozentuale Koloniezahlreduktion (% Red.) des Mittelwertes $\bar{x}$ gegenüber dem Mittelwert der Kontrollen (Spalten 3b, 4b, 5b), die Standardabweichung der prozentualen Koloniezahlreduktion (s_p) (Spalten 3c, 4c, 5c) und die auf den 10 Parallelplatten eines Versuches ermittelten Koloniezahlen (Spalten 6, 7, 8), wobei das Zeichen * bedeutet, daß die Kolonien der beweglichen Bazillenstämme wegen Riesenkoloniebildung oder Überwucherung des Nährmediums nicht ausgezählt werden konnten. Am Ende jeder Tabelle sind die pH-Werte der Kontrollmedien und die auf diesen Medien ermittelten Koloniezahlen und deren Mittelwerte ($\bar{x}_0$) (= Kontrollen) aufgeführt. Durch Wiederholungen der Versuche, ergänzende Untersuchungen und Teilungen der Versuchsreihen aus arbeitstechnischen Gründen beziehen sich die Einzelversuche einer Versuchsreihe teilweise auf verschiedene, durch römische Ziffern unter den Zahlen der Spalten 3a, 4a und 5a bezeichnete Kontrollen. Die Ergebnisse der t-Tests wurden nicht in die Tabellen aufgenommen, sie können aus der Beschreibung der Ergebnisse entnommen werden.

In den Tabellen 8a, b, c bis 10a, b, c wurde die Hemmwirkung der Einzelkomponenten derjenigen der Zweifachkombinationen bei jedem der 3 Teststämme gegenübergestellt. Dabei wurde im Einzelnen aufgeführt: Spalte 1: in der oberen Zeile die Kochsalzkonzentration in % und in der unteren Zeile die pH-Werte bzw.

Acetat- oder Diacetatkonzentrationen in %, Spalte 2: die prozentuale Koloniezahlreduktion durch die Einzelwirkungen der untersuchten Komponenten (% Red. Einzelwirkung), Spalte 3: die prozentuale Koloniezahlreduktion durch die Zweifachkombinationen (% Red. Zweifachkombination), Spalte 4: die Differenz der prozentualen Koloniezahlreduktion der Spalten 3 und 2, Spalte 5: die Ergebnisse der Prüfung der Signifikanz der Unterschiede (t-Test), wobei das Zeichen + bedeutet, daß die Unterschiede signifikant, das Zeichen $\emptyset$, daß die Unterschiede nicht signifikant waren (Irrtumswahrscheinlichkeit 5 % oder weniger). Dabei beziehen sich die Ergebnisse der t-Tests jeweils auf die am stärksten wirksame Einzelkomponente, in der Tabelle auch daran zu erkennen, daß die Zeichen + oder $\emptyset$ stets in der gleichen Zeile wie die am stärksten wirksamen Einzelkomponenten eingetragen wurden.

In den Tabellen 11a, b, c und 12a, b, c wurden die Hemmwirkungen der Einzelkomponenten, der Zweifachkombinationen und der Dreifachkombinationen bei jedem Teststamm gegenübergestellt. Dabei wurde grundsätzlich die gleiche Einteilung, wie in den Tabellen 8a, b, c bis 10a, b, c benutzt allerdings mit folgenden Unterschieden: in Spalte 4 wurden die prozentualen Koloniezahlreduktionen durch die Dreifachkombinationen (% Red. Dreifachkombination), in Spalte 5 die Differenzen der prozentualen Koloniezahlreduktion der Spalten 4 und 2 und der Spalten 4 und 3 und in Spalte 6 die Ergebnisse der t-Tests aufgeführt. Auch hierbei beziehen sich die Ergebnisse der t-Tests jeweils auf die am stärksten wirksame Einzelkomponente bzw. Zweifachkombination (auch hier durch die Eintragung in der gleichen Zeile erkennbar). Da sich durch Zusatz von Acetat der eingestellte pH-Wert des Mediums erhöhte, wurde in den Fällen, in denen der pH-Wert die am stärksten wirksame Einzelkomponente oder die NaCl/pH-Wert-Kombination die stärkste Zweifachkombination war, zusätzlich der t-Test für das am stärksten wirksame Salz bzw. für die Kombinationen der beiden Salze miteinander durchgeführt.

1.) pH-Werte

Der Einfluß verschiedener pH-Werte auf das Wachstum der Teststämme ist aus der Tabelle 4 zu ersehen.

Eine signifikante Reduktion der Koloniezahlen trat bei dem Bac. cereus-Stamm schon bei einem pH-Wert von 6,2 auf. Die Koloniezahl sank bei weiterer Erniedrigung des pH-Wertes. Bei einem pH-Wert von 5,2 trat eine fast vollständige (99,8% Reduktion), bei pH 5,0 eine vollständige Wachstumshemmung ein.

Auch die Koloniezahlen des Bac. subtilis-Stammes wiesen bei einem pH-Wert von 6,2 eine signifikante Erniedrigung gegenüber den Kontrollen auf. Bei einem pH-Wert von 4,6 trat eine fast vollständige Wachstumshemmung (98,3 % Reduktion) ein, und bei pH 4,2 konnte keine Spore des Teststammes mehr zu einer Kolonie heranwachsen.

Auch Sporen des Bac. circulans-Stammes erwiesen sich als empfindlich gegenüber einer Erniedrigung des pH-Wertes. Eine signifikante Reduktion der Koloniezahlen trat ebenfalls schon bei einem pH-Wert von 6,2 auf. Bei weiterer Erniedrigung des pH-Wertes nahm die Koloniezahl stark ab. Bei einem pH-Wert von 5,0 war eine fast vollständige Wachstumshemmung (99,8 % Reduktion) festzustellen, und bei einem pH-Wert von 4,6 konnte keine der Sporen mehr zu einer sichtbaren Kolonie heranwachsen.

Einfluß verschiedener pH-Werte auf das Wachstum der drei Teststämme

I.	a		b		c		d		e		f		g		h		i		j		k		l		m		n		o		p		q		r		s		t		u		v		w		x		y		z		aa		ab		ac		ad		ae		af		ag		ah		ai		aj		ak		al		am		an		ao		ap		aq		ar		as		at		au		av		aw		ax		ay		az		ba		bb		bc		bd		be		bf		bg		bh		bi		bj		bk		bl		bm		bn		bo		bp		bq		br		bs		bt		bu		bv		bw		bx		by		bz		ca		cb		cc		cd		ce		cf		cg		ch		ci		cj		ck		cl		cm		cn		co		cp		cq		cr		cs		ct		cu		cv		cw		cx		cy		cz		da		db		dc		dd		de		df		dg		dh		di		dj		dk		dl		dm		dn		do		dp		dq		dr		ds		dt		du		dv		dw		dx		dy		dz		ea		eb		ec		ed		ee		ef		eg		eh		ei		ej		ek		el		em		en		eo		ep		eq		er		es		et		eu		ev		ew		ex		ey		ez		fa		fb		fc		fd		fe		ff		fg		fh		fi		fj		fk		fl		fm		fn		fo		fp		fq		fr		fs		ft		fu		fv		fw		fx		fy		fz		ga		gb		gc		gd		ge		gf		gg		gh		gi		gj		gk		gl		gm		gn		go		gp		gq		gr		gs		gt		gu		gv		gw		gx		gy		gz		ha		hb		hc		hd		he		hf		hg		hi		hj		hk		hl		hm		hn		ho		hp		hq		hr		hs		ht		hu		hv		hw		hx		hy		hz		ia		ib		ic		id		ie		if		ig		ih		ii		ij		ik		il		im		in		io		ip		iq		ir		is		it		iu		iv		iw		ix		iy		iz		ja		jb		jc		jd		je		jf		jg		jh		ji		jj		jk		jl		jm		jn		jo		jp		jq		jr		js		jt		ju		jv		jw		jx		jy		jz		ka		kb		kc		kd		ke		kf		kg		kh		ki		kj		kk		kl		km		kn		ko		kp		kq		kr		ks		kt		ku		kv		kw		kx		ky		kz		la		lb		lc		ld		le		lf		lg		lh		li		lj		lk		ll		lm		ln		lo		lp		lq		lr		ls		lt		lu		lv		lw		lx		ly		lz		ma		mb		mc		md		me		mf		mg		mh		mi		mj		mk		ml		mm		mn		mo		mp		mq		mr		ms		mt		mu		mv		mw		mx		my		mz		na		nb		nc		nd		ne		nf		ng		nh		ni		nj		nk		nl		nm		nn		no		np		nq		nr		ns		nt		nu		nv		nw		nx		ny		nz		oa		ob		oc		od		oe		of		og		oh		oi		oj		ok		ol		om		on		oo		op		oq		or		os		ot		ou		ov		ow		ox		oy		oz		pa		pb		pc		pd		pe		pf		pg		ph		pi		pj		pk		pl		pm		pn		po		pp		pq		pr		ps		pt		pu		pv		pw		px		py		pz		qa		qb		qc		qd		qe		qf		qg		qh		qi		qj		qk		ql		qm		qn		qo		qp		qq		qr		qs		qt		qu		qv		qw		qx		qy		qz		ra		rb		rc		rd		re		rf		rg		rh		ri		rj		rk		rl		rm		rn		ro		rp		rq		rr		rs		rt		ru		rv		rw		rx		ry		rz		sa		sb		sc		sd		se		sf		sg		sh		si		sj		sk		sl		sm		sn		so		sp		sq		sr		ss		st		su		sv		sw		sx		sy		sz		ta		tb		tc		td		te		tf		tg		th		ti		tj		tk		tl		tm		tn		to		tp		tq		tr		ts		tt		tu		tv		tw		tx		ty		tz		ua		ub		uc		ud		ue		uf		ug		uh		ui		uj		uk		ul		um		un		uo		up		uq		ur		us		ut		uu		uv		uw		ux		uy		uz		va		vb		vc		vd		ve		vf		vg		vh		vi		vj		vk		vl		vm		vn		vo		vp		vq		vr		vs		vt		vu		vv		vw		vx		vy		vz		wa		wb		wc		wd		we		wf		wg		wh		wi		wj		wk		wl		wm		wn		wo		wp		wq		wr		ws		wt		wu		wv		ww		wx		wy		wz		xa		xb		xc		xd		xe		xf		xg		xh		xi		xj		xk		xl		xm		xn		xo		xp		xq		xr		xs		xt		xu		xv		xw		xx		xy		xz		ya		yb		yc		yd		ye		yf		yg		yh		yi		yj		yk		yl		ym		yn		yo		yp		yq		yr		ys		yt		yu		yv		yw		yx		yy		yz		za		zb		zc		zd		ze		zf		zg		zh		zi		zj		zk		zl		zm		zn		zo		zp		zq		zr		zs		zt		zu		zv		zw		zx		zy		zz	
	eingestellter pH-Wert	pH-Wert vor nach Bebrütung	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	Koloniezahlen	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	1	2	3	4	5	6	7	8	Bac. cere																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								

2.) Kochsalz

Der Kochsalzzusatz hatte in den Konzentrationen bis zu 7 % keinen oder nur geringen Einfluß auf den pH-Wert des Nährmediums, durch höhere Konzentrationen wurde eine Senkung des pH-Wertes bewirkt, die bei 15 % Kochsalz mehr als eine pH-Einheit betrug (siehe Tabelle 5).

Der Einfluß verschiedener Kochsalzkonzentrationen auf das Wachstum der Teststämme ist aus der Tabelle 5 zu ersehen.

Es zeigte sich, daß bei dem Bac. cereus-Stamm bei 2 % Kochsalz im Nährmedium bereits eine signifikante Reduktion der Zahl auskeimungs- und vermehrungsfähiger Sporen (Reduktion der Koloniezahl um 56 % gegenüber der Kontrolle) eintrat. Bei 5 % Kochsalz im Nährmedium trat eine nahezu vollständige Wachstumshemmung (Reduktion um 99,8 %) ein, und bei 7 % Kochsalz konnte keine Spore des Teststammes zu einer sichtbaren Kolonie heranwachsen.

Sporen des Bac. subtilis-Stammes konnten bis zu Kochsalzkonzentrationen von 5 % ungehemmt auskeimen (die Reduktion um 10,7 % bei 5 % Kochsalz erwies sich als nicht signifikant). Bei einer Kochsalzkonzentration von 7 % setzte eine signifikante Reduktion der Zahl der auskeimungs- und vermehrungsfähigen Sporen ein (Reduktion um 26,4 %), eine vollständige Vermehrungshemmung wurde mit einer Kochsalzkonzentration von 10 % im Nährmedium erreicht.

Bei Kochsalzkonzentrationen von 1 % und 2 % konnten alle Sporen des Bac. circulans-Stammes auskeimen. Bei einer 3 %igen Kochsalzkonzentration setzte eine Hemmwirkung ein, die sich als signifikant erwies. 5 % Kochsalz bewirkten eine fast vollständige Wachstumshemmung (Reduktion um 99,1 %), bei 7 % Kochsalz im Nährmedium konnte keine Spore des Teststammes zu einer Kolonie heranwachsen.

Einfluß verschiedener Kochsalzkonzentrationen auf das Wachstum der drei Teststämme

[illegible]

3.) Natriumacetat

Der Zusatz von Natriumacetat hatte in niedrigen Konzentrationen (bis zu 1 %) keinen Einfluß auf den pH-Wert des Nährmediums. Ab einer Konzentration von 2 % zeigte sich eine leichte pH-Wert-Erhöhung, die bei dem Zusatz von 8 % Natriumacetat zum Nährmedium 0,4 pH-Einheiten betrug.

Der Einfluß verschiedener Natriumacetatkonzentrationen auf das Wachstum der Teststämme ist aus der Tabelle 6 zu ersehen.

Es zeigte sich, daß ein Zusatz von 0,3 % Natriumacetat eine signifikante Reduktion der Koloniezahl des Bac. cereus-Stammes bewirkte, beim Vorliegen von 2 % Natriumacetat im Nährmedium trat eine vollständige Wachstumshemmung auf.

Eine signifikante Hemmwirkung auf die Sporen des Bac. subtilis-Stammes wurde bei Zusatz von 2 % Natriumacetat zum Nährmedium erreicht, eine vollständige Wachstumshemmung war mit einer Natriumacetatkonzentration von 7 % zu erzielen.

Der Zusatz von 2 % Natriumacetat hatte keinen Einfluß auf das Wachstum der Sporen des Bac. circulans-Stammes. Eine Konzentration von 3 % Natriumacetat führte zu einer signifikanten Wachstumshemmung, eine vollständige Wachstumshemmung konnte durch Zusatz von 7 % Natriumacetat zum Nährmedium erreicht werden.

Tabelle 6:

Einfluß verschiedener Natriumacetatkonzentrationen auf das Wachstum der drei Teststämme

1	2	3	4	5	6	7	8
	a	b	a	b	a	b	
Natrium- acetat- konzentra- tion	pH-Wert vor nach Bebrütung	Bac. cereus %	Bac. subtilis %	Bac. circulans %	Bac. cereus %	Bac. subtilis %	Bac. circulans %
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	
0,3 %	6,85 7,0	129	26,7 6,1		140 126 147 132 129 121 112 128		
0,5 %	6,92 7,05	94	46,6 4,7		89 96 84 112 97 93 91 92		
1,0 %	7,00 7,09	65	63,1 8,4 183	11,2 7,5 191 0 5,1	76 56 48 53 70 86	202 194 176 178 163	202 181 186 180 193 203 194
2,0 %	7,08 7,18	0 100	159 22,8 4,1	202 0 8,2	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	163 164 162 146	224 202 213 201 185 186
3,0 %	7,12 7,28	0 100	159 22,8 12,3	99 46,5 7,4	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	134 137 147 170 181 140 152 159 212	111 99 104 76 88 113 102 96 120 84
4,0 %	7,20 7,28	0 100	148 28,2 6,3	83 55,1 9,1	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	165 165 141 131 163 141 149 149 147 130	96 102 72 76 94 70 66 112 70 67
5,0 %	7,28 7,39	0 100	129 37,4 6,8	42 77,3 4,5	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	131 107 130 126 110 153 122 138 134 142	36 34 54 38 43 57 30 40 42 43
6,0 %	7,29 7,35	0 100	125 39,3 8,8	22 88,1 2,3	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	99 113 146 116 124 107 155 142 117 131	20 20 20 29 25 21 17 29 20
7,0 %	7,30 7,39	0 100	0 100	0 100	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
8,0 %	7,39 7,49	0 100	0 100	0 100	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
Kontrolle	7,02 7,09	176	206	185	178 179 182 167 164 158 201 187 166	210 198 204 208 208 198 192 194 154	198 192 194 154 198 192 194 154

4.) Natriumdiacetat

Der Zusatz von Natriumdiacetat bewirkte schon in Konzentrationen von 0,01 % eine deutliche Herabsetzung des pH-Wertes des Nährmediums um etwa 0,4 pH-Einheiten. 0,08 % Natriumdiacetat führten zu einer pH-Wert-Erniedrigung um etwa 1,3 Einheiten; 0,1 und 0,12 % Natriumdiacetat um etwa 1,5 Einheiten (siehe Tabelle 7).

Der Einfluß verschiedener Natriumdiacetatkonzentrationen auf das Wachstum der Teststämme ist aus der Tabelle 7 zu ersehen.

Es zeigte sich, daß schon durch Zusatz von 0,03 % Natriumdiacetat zum Nährmedium eine signifikante Hemmwirkung auf die Sporen des Bac. cereus-Stammes ausgeübt wurde. Eine vollständige Wachstumshemmung konnte mit einer Natriumdiacetatkonzentration von 0,12 % erreicht werden.

Mit 0,05 % Natriumdiacetat im Nährmedium konnte eine signifikante Hemmwirkung auf die Sporen des Bac. subtilis-Stammes erzielt werden, 0,12 % Natriumdiacetat bewirkten bei diesem Bazillusstamm eine vollständige Wachstumshemmung.

Eine signifikante Wachstumshemmung der Sporen des Bac. circulans-Stammes wurde mit 0,03 % Natriumdiacetat erreicht. Eine vollständige Wachstumshemmung trat bei Bac. circulans bei einer Konzentration von 0,1 % Natriumdiacetat im Nährmedium auf.

Tabelle 7:

Einfluss verschiedener Natriumdiacetatkonzentrationen auf das Wachstum der drei Teststämme

I	a ² b		a ³		4			5			6			7			8										
	a	b	a	b	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c								
Natriumdi- acetatkon- zentration	pH-Wert vor nach Bebrütung			Bac.cereus			Bac.subtilis			Bac.circulans			Bac.cereus			Bac.subtilis			Bac.circulans								
	$\bar{x}$	$\bar{s}$	$\bar{p}$	$\bar{x}$	$\bar{s}$	$\bar{p}$	$\bar{x}$	$\bar{s}$	$\bar{p}$	$\bar{x}$	$\bar{s}$	$\bar{p}$	$\bar{x}$	$\bar{s}$	$\bar{p}$	$\bar{x}$	$\bar{s}$	$\bar{p}$	$\bar{x}$	$\bar{s}$	$\bar{p}$						
0,01 ‰	6,58	6,64	I	203	0	9,2	203	0	15,9	169	8,6	9,9	208	213	218	226	178	208	238	203	162	152	196	172	190	171	
							I		I				201	178								147	158				
0,03 ‰	6,20	6,40	I	131	35,8	5,2	176	10,7	14,4	109	41,1	9,7	124	118	151	131	138	167	178	213	187	136	109	114	113	105	104
							I		I				127	128													
0,05 ‰	5,90	6,10	I	72	64,8	6,1	122	38,1	9,2	52	71,9	9,7	67	58	85	60	93	101	111	107	141	143	40	59	58	42	51
							I		I				62	75	72								64	48	45	59	
0,06 ‰	5,78	5,78	II	50	70,7	8,5	159	33,7	4,3	33	85,7	2,2	67	62	50	29	49	174	152	155	154		37	37	30	34	25
							II		II				32	58													
0,07 ‰	5,58	5,65	I	43	78,9	3,5	90	54,4	5,8	7	96,2	2,3	32	39	48	46	40	85	100	90	93	78	2	9	4	4	15
							I		I				40	40	58	48	41	100	104	67	95	84	10	9	2	4	10
0,08 ‰	5,60	5,51	II	33	80,7	4,4	120	50,0	7,3	8	96,5	1,9	28	43	39	29	26	147	137	137	116	96	17	6	8	4	5
							II		II													8	4	13	6	11	
0,1 ‰	5,42	5,48	I	6	97,1	1,4	34	85,8	8,6	0	100		9	2	5	4	3	25	23	25	16	17	0	0	0	0	0
							II		I				8	7	9	3	6	21	62	36	85	26	0	0	0	0	0
0,12 ‰	5,32	5,38	II	0	100		II	0	100		0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
									II				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontrolle I	6,91	7,05	204				197		185				216	210	180	178	199	210	198	204	208	208	198	192	194	154	
													220	225				153									
Kontrolle II	6,88	6,86	171				240		230				179	162	196	179	172	212	246	251	246	254	210	246	208	274	214
													179	132				228									

5.) Kombination verschiedener Kochsalzkonzentrationen und pH-Werte

Die eingestellten pH-Werte wurden durch die Kochsalzzugabe nur geringgradig beeinflusst, sie zeigten Schwankungen von den angegebenen Werten bis zu 0,4 pH-Einheiten nach oben und unten (diese Schwankungen waren jedoch unregelmäßig, so daß die Abweichungen vermutlich durch Schwankungen bei der pH-Wert-Einstellung bedingt sind).

Die kombinierte Wirkung verschiedener Kochsalzkonzentrationen und pH-Werte auf das Wachstum der Teststämme ist aus der Tabelle 8 zu ersehen. In den Tabellen 8 a bis 8 c wurden die Hemmwirkung der Einzelfaktoren und die Hemmwirkung der Kombinationen zusammengestellt.

Es zeigte sich, daß Bac. cereus schon bei 1 % Kochsalz und einem pH-Wert von 6,0 signifikant im Wachstum gehemmt wurde. Vollständige Wachstumshemmung wurde erzielt bei pH 5,0 und Kochsalzkonzentrationen von 1 % aufwärts und bei den Kombinationen von 5 % Kochsalz und pH-Werten von 6,0 und weniger.

Beim Vergleich der Hemmwirkungen der Einzelfaktoren und derjenigen der Kombinationen (siehe Tabelle 8 a) zeigten sich zwar Unterschiede, diese erwiesen sich jedoch sämtlich als statistisch insignifikant.

Eine signifikante Wachstumshemmung von Bac. subtilis begann bei folgenden Kombinationen: 1 % NaCl/pH 5,5 und 3 % NaCl/pH 6,0. Eine vollständige Wachstumshemmung wurde mit 1 % und mehr NaCl/pH 4,5 und 5 % NaCl/pH 5,0 erreicht.

Ein Vergleich der Hemmwirkungen der Einzelfaktoren und derjenigen der Kombinationen (siehe Tabelle 8 b) ergab, daß die Kombinationen von 1 und 2 % Kochsalz mit den pH-Werten 5,0; 5,5 und 6,0 und von 3 % Kochsalz mit den pH-Werten 5,0 und 5,5 schwächer wirksam waren als die pH-Werte in Einzelwirkung. Diese Unterschiede waren signifikant bei den Kombinationen 1. % NaCl/pH 5,0, 2 % NaCl/pH 5,0 und 3 % NaCl/pH 5,0 gegen-

über der reinen pH-Wirkung, bei den übrigen Kombinationen jedoch insignifikant. Bei den Kombinationen von 5 % Kochsalz mit den pH-Werten 4,5 - 5,0 - 5,5 - 6,0 war eine stärkere Hemmwirkung der Kombinationen gegenüber derjenigen der reinen pH-Wirkungen festzustellen. Die Unterschiede in der Hemmwirkung erwiesen sich jedoch nur bei der Kombination 5 % NaCl/pH 5,0 als statistisch signifikant.

Eine signifikante Wachstumshemmung des Bac. circulans-Stammes trat bei der Kombination 1 % NaCl/pH 6,0 auf. Eine vollständige Unterdrückung des Wachstums konnte mit Kombinationen von Kochsalz mit pH 5,0 sowie von 5 % Kochsalz mit allen geprüften pH-Werten erreicht werden.

Ein Vergleich der Hemmwirkungen der Einzelfaktoren und derjenigen der Kombinationen (siehe Tabelle 8 c) ergab, daß die Kombinationen 1 % NaCl/pH 5,5; 1 % NaCl/pH 6,0 und 2 % NaCl/pH 5,5 geringere Hemmung hervorriefen als die pH-Werte in Einzelwirkung. Diese Unterschiede waren jedoch nur bei der Kombination 1 % NaCl/pH 5,5 signifikant gegenüber der reinen pH-Wirkung. Bei den übrigen Kombinationen (2 % NaCl/pH 6,0; 3 % NaCl/pH 5,5 und 6,0; 5 % NaCl mit pH 5,5 und 6,0) bewirkten die Kombinationen eine stärkere Hemmung als die pH-Werte und die Kochsalzkonzentrationen allein, wobei die Unterschiede in den Hemmwirkungen durch Einzelfaktoren und Kombinationen sich jedoch nur bei der Kombination 2 % NaCl/pH 6,0 als signifikant gegenüber der reinen pH-Wirkung erwiesen. Die übrigen Unterschiede waren insignifikant.

Einfluß von Kombinationen verschiedener Kochsalzkonzentrationen und pH-Werte auf das Wachstum der drei Teststämme

[illegible]

Tabelle 8a:

Zusammenstellung der prozentualen Koloniezahlreduktion verursacht durch Einzel- und Kombinationswirkung von Kochsalz und pH-Werten bei dem *Bac. cereus*-Stamm.

1	2	3	4	5
NaCl & pH-Wert	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- komb.	Differenz 3 - 2	t - Test
$\frac{1}{5,5}$	$\frac{0}{72,7}$	43,0	$\frac{43,0}{-29,7}$	<u>Ø</u>
$\frac{1}{6,0}$	$\frac{0}{37,1}$	40,4	$\frac{40,4}{3,3}$	<u>Ø</u>
$\frac{2}{5,5}$	$\frac{56,0}{72,7}$	69,5	$\frac{13,0}{-3,2}$	<u>Ø</u>
$\frac{2}{6,0}$	$\frac{56,0}{37,1}$	66,2	$\frac{10,2}{29,1}$	<u>Ø</u>
$\frac{3}{5,5}$	$\frac{80,0}{72,7}$	81,5	$\frac{1,5}{8,8}$	<u>Ø</u>
$\frac{3}{6,0}$	$\frac{80,0}{37,1}$	84,8	$\frac{4,8}{47,7}$	<u>Ø</u>
$\frac{5}{5,5}$	$\frac{99,8}{72,7}$	100,0	$\frac{0,2}{27,3}$	<u>Ø</u>
$\frac{5}{6,0}$	$\frac{99,8}{37,1}$	100,0	$\frac{0,2}{62,9}$	<u>Ø</u>

Tabelle 8b:

Zusammenstellung der prozentualen Koloniezahlreduktion verursacht durch Einzel- und Kombinationswirkung von Kochsalz und pH-Werten bei dem Bac. subtilis-Stamm

1	2	3	4	5
NaCl % pH-Wert	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- komb.	Differenz 3 - 2	t - Test
$\frac{1}{5,0}$	$\frac{6,0}{85,3}$	37,0	$\frac{31,0}{-48,3}$	$\overline{+}$
$\frac{1}{5,5}$	$\frac{6,0}{36,1}$	9,3	$\frac{3,3}{-26,8}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{1}{6,0}$	$\frac{6,0}{26,0}$	18,0	$\frac{12,0}{-8,0}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{2}{5,0}$	$\frac{7,0}{85,3}$	51,7	$\frac{44,7}{-33,6}$	$\overline{+}$
$\frac{2}{5,5}$	$\frac{7,0}{36,1}$	15,7	$\frac{8,7}{-20,4}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{2}{6,0}$	$\frac{7,0}{26,0}$	2,9	$\frac{4,1}{-23,1}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{3}{5,0}$	$\frac{9,6}{85,3}$	71,7	$\frac{62,1}{-13,6}$	$\overline{+}$
$\frac{3}{5,5}$	$\frac{9,6}{36,1}$	30,2	$\frac{21,4}{-5,9}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{3}{6,0}$	$\frac{9,6}{26,0}$	30,2	$\frac{21,4}{4,2}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{5}{5,0}$	$\frac{10,7}{85,3}$	100,0	$\frac{89,3}{14,7}$	$\overline{+}$
$\frac{5}{5,5}$	$\frac{10,7}{36,1}$	55,9	$\frac{45,2}{19,8}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{5}{6,0}$	$\frac{10,7}{26,0}$	25,1	$\frac{14,4}{-0,9}$	$\overline{\emptyset}$

Tabelle 8c:

Zusammenstellung der prozentualen Koloniereduktionen verursacht durch Einzel- und Kombinationsauswirkung von Kochsalz und pH-Werten bei dem Bac. circulans-Stamm.

1	2	3	4	5
NaCl % pH-Wert	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- komb.	Differenz 3 - 2	t - Test
$\frac{1}{5,5}$	$\frac{0}{95,4}$	74,6	$\frac{74,6}{-20,8}$	$\frac{+}{+}$
$\frac{1}{6,0}$	$\frac{0}{53,3}$	49,3	$\frac{49,3}{-4,0}$	$\frac{\emptyset}{\emptyset}$
$\frac{2}{5,5}$	$\frac{0}{95,4}$	87,0	$\frac{87,0}{-8,4}$	$\frac{\emptyset}{\emptyset}$
$\frac{2}{6,0}$	$\frac{0}{53,3}$	71,0	$\frac{71,0}{18,3}$	$\frac{+}{+}$
$\frac{3}{5,5}$	$\frac{62,9}{95,4}$	99,6	$\frac{36,7}{4,2}$	$\frac{\emptyset}{\emptyset}$
$\frac{3}{6,0}$	$\frac{62,9}{53,3}$	98,8	$\frac{35,9}{45,5}$	$\frac{\emptyset}{\emptyset}$
$\frac{5}{5,5}$	$\frac{99,1}{95,4}$	100,0	$\frac{0,9}{4,6}$	$\frac{\emptyset}{\emptyset}$
$\frac{5}{6,0}$	$\frac{99,1}{53,3}$	100,0	$\frac{0,9}{46,7}$	$\frac{\emptyset}{\emptyset}$

6.) Kombinationen verschiedener Kochsalz- und Natriumacetat-
konzentrationen

Durch die Zugabe von Kochsalz/Natriumacetatkombinationen wurde der pH-Wert des Nährmediums leicht verändert, und zwar war er bei niedrigen Acetatkonzentrationen (bis zu 1 %) um etwa 0,3 pH-Einheiten erniedrigt, bei hohen Acetatkonzentrationen (ab 6 %) um etwa 0,2 pH-Einheiten erhöht.

Die kombinierte Wirkung verschiedener Kochsalz- und Natriumacetatkonzentrationen ist aus der Tabelle 9 zu ersehen. In den Tabellen 9 a bis 9 c wurde die Hemmwirkung der Salze in der Einzelwirkung und in der Kombination zusammengestellt.

Es zeigte sich, daß Bac. cereus schon bei der Kombination 1 % NaCl/0,3 % Na-Acetat signifikant in seinem Wachstum gehemmt wurde. Vollständige Wachstumshehmung wurde erreicht mit den Kombinationen von 1 % und mehr NaCl mit 2,0 % Natriumacetat, fast vollständige Wachstumshehmung (Abnahme der Koloniezahl um mehr als 99 %) mit folgenden Kombinationen: 2 % NaCl/1,0 % Na-Acetat, 3 % NaCl/0,3 %, 0,5 % und 1,0 % Na-Acetat.

Ein Vergleich der Hemmwirkungen der Einzelfaktoren und derjenigen der Kombinationen (siehe Tabelle 9 a) ergab, daß die Salzkombinationen eine größere Hemmwirkung als die Einzelsalze bewirkten. Diese Unterschiede in den Hemmwirkungen waren insignifikant bei den Kombinationen mit 1 % Kochsalz. Die Hemmwirkung war jedoch bei den Kombinationen 2 % NaCl/0,3 % und 0,5 % Na-Acetat; 3 % NaCl/0,3 % und 0,5 % Na-Acetat signifikant größer gegenüber der Kochsalzeinzelwirkung und bei den Kombinationen 2 % und 3 % NaCl/1 % Acetat signifikant größer gegenüber der Acetateinzelwirkung.

Eine signifikante Wachstumshehmung von Bac. subtilis lag ab der Kombination von 1 % Kochsalz mit 2 % Natriumacetat vor. Eine vollständige Hemmung des Teststammes wurde erreicht mit folgenden Kombinationen: 1 % und mehr NaCl/8 % Na-Acetat, 3 %

und mehr NaCl/6 % und mehr Na-Acetat, 5 % NaCl/4 % und mehr Na-Acetat.

Ein Vergleich der Hemmwirkungen der Einzelfaktoren und derjenigen der Kombinationen (siehe Tabelle 9 b) ergab, daß alle Kombinationen stärker wirksam waren als die Einzelsalze, wobei sich jedoch nicht alle Unterschiede zwischen den Hemmwirkungen als signifikant erwiesen. Die Hemmwirkung der Kombinationen war in folgenden Fällen signifikant stärker als die Acetateinzelwirkung: 1 % und 2 % NaCl/6 % Acetat; 3 % und 5 % NaCl/2 %, 4 % und 6 % Acetat.

Eine signifikante Wachstumshemmung des Bac. circulans-Stammes lag ab der Kombination von 1 % Kochsalz mit 2 % Na-Acetat vor. Eine vollständige Unterdrückung des Wachstums war mit den Kombinationen 1 % und mehr NaCl/6 % Na-Acetat und 5 % NaCl/2 % und mehr Na-Acetat zu erreichen.

Ein Vergleich der Hemmwirkungen der Einzelfaktoren und derjenigen der Kombinationen (siehe Tabelle 9 c) ergab, daß alle Kombinationen das Wachstum des Teststammes stärker hemmten als die Salze in der Einzelwirkung. Die Unterschiede zwischen den Hemmwirkungen der Einzelfaktoren und denjenigen der Kombinationen erwiesen sich bei den Kombinationen von 3 % NaCl mit 2 % und 4 % Acetat als insignifikant gegenüber der NaCl-Einzelwirkung, bei den übrigen Versuchen jedoch als signifikant gegenüber den Acetateinzelwirkungen.

Tabelle 9:

Einfluß von Kombinationen verschiedener Kochsalz- und Natriumacetat-
konzentrationen auf das Wachstum der drei Teststämme

1	a	b ²	a	b ³	c	a	b ⁴	a	b ⁵	c	6	7	8
Kochsalz- und Natrium- acetatkonzen- trationen	pH-Werte vor nach acetatkonzen- trationen	$\bar{x}$	Bac. cereus Red. sp	$\bar{x}$	Bac. subtilis Red. sp	$\bar{x}$	Bac. subtilis Red. sp	Bac. circulans Red. sp	Koloniezahlen				
									Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. subtilis	Bac. circulans	
1% - 0,3%	6,83 6,75	101	40,9 3,5						99 97 110 99 # # # #				
1% - 0,5%	6,82 6,76	78	54,4 3,5						82 72 77 85 70 # # # # #				
1% - 1,0%	6,85 6,79	47	72,5 6,9						33 55 44 37 49 65 # # # #				
1% - 2,0%	6,95 7,10	0	100	156	23,6	9,7	99	47,9 0	0 0 0 0 0	130 147 157 139 145 # # # # #			
1% - 4,0%	7,12 7,22	0	100	126	39,7	8,2	32	83,2 2,4	0 0 0 0 0	130 104 112 148 109 148 146 110 122 127 # # # # #			
1% - 6,0%	7,20 7,30	0	100	39	81,3	2,9	0	100	0 0 0 0 0	42 46 38 44 29 41 35 31 45 # # # # # #			
1% - 8,0%	7,30 7,39	0	100	0	100	0	100	0 100	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0			
2% - 0,3%	6,76 6,68	21	87,7 1,7						23 18 25 19 22 # # # # #				
2% - 0,5%	6,79 6,65	13	92,4 2,1						10 20 11 12 12 13 # # # #				
2% - 1,0%	6,85 6,75	0,3	99,8 0,2						1 1 1 0 0 0 0 0 0 0				
2% - 2,0%	6,92 7,08	0	100	151	27,8	7,5	70	63,2 5,2	0 0 0 0 0	151 129 142 164 177 143 161 139 # # # # # #			
2% - 4,0%	7,05 7,17			110	47,4	8,8	2	99,0 0,4		97 103 152 131 104 107 99 92 101 117 # # # # #			
2% - 6,0%	7,15 7,29			17	81,3	4,1	0	100	33 19 17 12 21 9 4 11 17 26 # # # # #				
2% - 8,0%	7,29 7,34			0	100	0	100	0 100	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0			
3% - 0,3%	6,70 6,60	1,0	99,4 0,2						1 1 1 0 1 0 3 2 1 0				
3% - 0,5%	6,74 6,64	0,7	99,6 0,4						1 1 2 1 1 1 0 0 0 0				

Tabelle 9:

Fortsetzung

Kochsalz- und Natrium- acetatkonzen- tration	a		b		c		d		e		f		g		h		i		j		k		l		m		n		o		p		q		r		s		t		u		v		w		x		y		z		aa		ab		ac		ad		ae		af		ag		ah		ai		aj		ak		al		am		an		ao		ap		aq		ar		as		at		au		av		aw		ax		ay		az		ba		bb		bc		bd		be		bf		bg		bh		bi		bj		bk		bl		bm		bn		bo		bp		bq		br		bs		bt		bu		bv		bw		bx		by		bz		ca		cb		cc		cd		ce		cf		cg		ch		ci		cj		ck		cl		cm		cn		co		cp		cq		cr		cs		ct		cu		cv		cw		cx		cy		cz		da		db		dc		dd		de		df		dg		dh		di		dj		dk		dl		dm		dn		do		dp		dq		dr		ds		dt		du		dv		dw		dx		dy		dz		ea		eb		ec		ed		ee		ef		eg		eh		ei		ej		ek		el		em		en		eo		ep		eq		er		es		et		eu		ev		ew		ex		ey		ez		fa		fb		fc		fd		fe		ff		fg		fh		fi		fj		fk		fl		fm		fn		fo		fp		fq		fr		fs		ft		fu		fv		fw		fx		fy		fz		ga		gb		gc		gd		ge		gf		gg		gh		gi		gj		gk		gl		gm		gn		go		gp		gq		gr		gs		gt		gu		gv		gw		gx		gy		gz		ha		hb		hc		hd		he		hf		hg		hi		hj		hk		hl		hm		hn		ho		hp		hq		hr		hs		ht		hu		hv		hw		hx		hy		hz		ia		ib		ic		id		ie		if		ig		ih		ii		ij		ik		il		im		in		io		ip		iq		ir		is		it		iu		iv		iw		ix		iy		iz		ja		jb		jc		jd		je		jf		jg		jh		ji		jj		jk		jl		jm		jn		jo		jp		jq		jr		js		jt		ju		jv		jw		jx		jy		jz		ka		kb		kc		kd		ke		kf		kg		kh		ki		kj		kk		kl		km		kn		ko		kp		kq		kr		ks		kt		ku		kv		kw		kx		ky		kz		la		lb		lc		ld		le		lf		lg		lh		li		lj		lk		ll		lm		ln		lo		lp		lq		lr		ls		lt		lu		lv		lw		lx		ly		lz		ma		mb		mc		md		me		mf		mg		mh		mi		mj		mk		ml		mm		mn		mo		mp		mq		mr		ms		mt		mu		mv		mw		mx		my		mz		na		nb		nc		nd		ne		nf		ng		nh		ni		nj		nk		nl		nm		nn		no		np		nq		nr		ns		nt		nu		nv		nw		nx		ny		nz		oa		ob		oc		od		oe		of		og		oh		oi		oj		ok		ol		om		on		oo		op		oq		or		os		ot		ou		ov		ow		ox		oy		oz		pa		pb		pc		pd		pe		pf		pg		ph		pi		pj		pk		pl		pm		pn		po		pp		pq		pr		ps		pt		pu		pv		pw		px		py		pz		qa		qb		qc		qd		qe		qf		qg		qh		qi		qj		qk		ql		qm		qn		qo		qp		qq		qr		qs		qt		qu		qv		qw		qx		qy		qz		ra		rb		rc		rd		re		rf		rg		rh		ri		rj		rk		rl		rm		rn		ro		rp		rq		rr		rs		rt		ru		rv		rw		rx		ry		rz		sa		sb		sc		sd		se		sf		sg		sh		si		sj		sk		sl		sm		sn		so		sp		sq		sr		ss		st		su		sv		sw		sx		sy		sz		ta		tb		tc		td		te		tf		tg		th		ti		tj		tk		tl		tm		tn		to		tp		tq		tr		ts		tt		tu		tv		tw		tx		ty		tz		ua		ub		uc		ud		ue		uf		ug		uh		ui		uj		uk		ul		um		un		uo		up		uq		ur		us		ut		uu		uv		uw		ux		uy		uz		va		vb		vc		vd		ve		vf		vg		vh		vi		vj		vk		vl		vm		vn		vo		vp		vq		vr		vs		vt		vu		vv		vw		vx		vy		vz		wa		wb		wc		wd		we		wf		wg		wh		wi		wj		wk		wl		wm		wn		wo		wp		wq		wr		ws		wt		wu		wv		ww		wx		wy		wz		xa		xb		xc		xd		xe		xf		xg		xh		xi		xj		xk		xl		xm		xn		xo		xp		xq		xr		xs		xt		xu		xv		xw		xx		xy		xz		ya		yb		yc		yd		ye		yf		yg		yh		yi		yj		yk		yl		ym		yn		yo		yp		yq		yr		ys		yt		yu		yv		yw		yx		yy		yz		za		zb		zc		zd		ze		zf		zg		zh		zi		zj		zk		zl		zm		zn		zo		zp		zq		zr		zs		zt		zu		zv		zw		zx		zy		zz		aa		ab		ac		ad		ae		af		ag		ah		ai		aj		ak		al		am		an		ao		ap		aq		ar		as		at		au		av		aw		ax		ay		az		ba		bb		bc		bd		be		bf		bg		bh		bi		bj		bk		bl		bm		bn		bo		bp		bq		br		bs		bt		bu		bv		bw		bx		by		bz		ca		cb		cc		cd		ce		cf		cg		ch		ci		cj		ck		cl		cm		cn		co		cp		cq		cr		cs		ct		cu		cv		cw		cx		cy		cz		da		db		dc		dd		de		df		dg		dh		di		dj		dk		dl		dm		dn		do		dp		dq		dr		ds		dt		du		dv		dw		dx		dy		dz		ea		eb		ec		ed		ee		ef		eg		eh		ei		ej		ek		el		em		en		eo		ep		eq		er		es		et		eu		ev		ew		ex		ey		ez		fa		fb		fc		fd		fe		ff		fg		fh		fi		fj		fk		fl		fm		fn		fo		fp		fq		fr		fs		ft		fu		fv		fw		fx		fy		fz		ga		gb		gc		gd		ge		gf		gg		gh		gi		gj		gk		gl		gm		gn		go		gp		gq		gr		gs		gt		gu		gv		gw		gx		gy		gz		ha		hb		hc		hd		he		hf		hg		hi		hj		hk		hl		hm		hn		ho		hp		hq		hr		hs		ht		hu		hv		hw		hx		hy		hz		ia		ib		ic		id		ie		if		ig		ih		ii		ij		ik		il		im		in		io		ip		iq		ir		is		it		iu		iv		iw		ix		iy		iz		ja		jb		jc		jd		je		jf		jg		jh		ji		jj		jk		jl		jm		jn		jo		jp		jq		jr		js		jt		ju		jv		jw		jx		jy		jz		ka		kb		kc		kd		ke		kf		kg		kh		ki		kj		kk		kl		km		kn		ko		kp		kq		kr		ks		kt		ku		kv		kw		kx		ky		kz		la		lb		lc		ld		le		lf		lg		lh		li		lj		lk		ll		lm		ln		lo		lp		lq		lr		ls		lt		lu		lv		lw		lx		ly		lz		ma		mb		mc		md		me		mf		mg		mh		mi		mj		mk		ml		mm		mn		mo		mp		mq		mr		ms		mt		mu		mv		mw		mx		my		mz		na		nb		nc		nd		ne		nf		ng		nh		ni		nj		nk		nl		nm		nn		no		np		nq		nr		ns		nt		nu		nv		nw		nx		ny		nz		oa		ob		oc		od		oe		of		og		oh		oi		oj		ok		ol		om		on		oo		op		oq		or		os		ot		ou		ov		ow		ox		oy		oz		pa		pb		pc		pd		pe		pf		pg		ph		pi		pj		pk		pl		pm		pn		po		pp		pq		pr		ps		pt		pu		pv		pw		px		py		pz		qa		qb		qc		qd		qe		qf		qg		qh		qi		qj		qk		ql		qm		qn		qo		qp		qq		qr		qs		qt		qu		qv		qw		qx		qy		qz		ra		rb		rc		rd		re		rf		rg		rh		ri		rj		rk		rl		rm		rn		ro		rp		rq		rr		rs		rt		ru		rv		rw		rx		ry		rz		sa		sb		sc		sd		se		sf		sg		sh		si		sj		sk		sl		sm		sn		so		sp		sq		sr		ss		st		su		sv		sw		sx		sy		sz		ta		tb		tc		td		te		tf		tg		th		ti		tj		tk		tl		tm		tn		to		tp		tq		tr		ts		tt		tu		tv		tw		tx		ty		tz		ua		ub		uc		ud		ue		uf		ug		uh		ui		uj		uk		ul		um		un		uo		up		uq		ur		us		ut		uu		uv		uw		ux		uy		uz		va		vb		vc		vd		ve		vf		vg		vh		vi		vj		vk		vl		vm		vn		vo		vp		vq		vr		vs		vt		vu		vv		vw		wx		wy		wz		xa		xb		xc		xd		xe		xf		xg		xh		xi		xj		xk		xl		xm		xn		xo		xp		xq		xr		xs		xt		xu		xv		xw		xx		xy		xz		ya		yb		yc		yd		ye		yf		yg		yh		yi		yj		yk		yl		ym		yn		yo		yp		yq		yr		ys		yt		yu		yv		yw		yx		yy		yz		za		zb		zc		zd		ze		zf		zg		zh		zi		zj		zk		zl		zm		zn		zo		zp		zq		zr		zs		zt		zu		zv		zw		zx		zy		zz		aa		ab		ac		ad		ae		af		ag		ah		ai		aj		ak		al	
---	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	---	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--	----	--

Tabelle 9a:

Zusammenstellung der prozentualen Koloniezahlreduktion verursacht durch Einzel- und Kombinationswirkung von Kochsalz und Natriumacetat bei dem Bac. cereus-Stamm.

1	2	3	4	5
NaCl % Acetat %	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- komb.	Differenz 3 - 2	t - Test
$\frac{1}{0,3}$	$\frac{0}{26,7}$	40,9	$\frac{40,9}{14,2}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{1}{0,5}$	$\frac{0}{46,6}$	54,4	$\frac{54,4}{7,8}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{1}{1,0}$	$\frac{0}{63,1}$	72,5	$\frac{72,5}{9,4}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{1}{2,0}$	$\frac{0}{100,0}$	100,0	$\frac{100,0}{0}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{2}{0,3}$	$\frac{56,0}{26,7}$	87,7	$\frac{31,7}{61,0}$	$\overline{+}$
$\frac{2}{0,5}$	$\frac{56,0}{46,6}$	92,4	$\frac{36,4}{45,8}$	$\overline{+}$
$\frac{2}{1,0}$	$\frac{56,0}{63,1}$	99,8	$\frac{43,8}{36,7}$	$\overline{+}$
$\frac{2}{2,0}$	$\frac{56,0}{100,0}$	100,0	$\frac{44,0}{0}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{3}{0,3}$	$\frac{80,0}{26,7}$	99,4	$\frac{19,4}{72,7}$	$\overline{+}$
$\frac{3}{0,5}$	$\frac{80,0}{46,6}$	99,6	$\frac{19,6}{53,0}$	$\overline{+}$
$\frac{3}{1,0}$	$\frac{80,0}{63,1}$	99,9	$\frac{19,9}{36,8}$	$\overline{+}$
$\frac{3}{2,0}$	$\frac{80,0}{100,0}$	100,0	$\frac{20,0}{0}$	$\overline{\emptyset}$

Tabelle 9b:

Zusammenstellung der prozentualen Koloniezahlreduktion verursacht durch Einzel- und Kombinationswirkung von Kochsalz und Natriumacetat bei dem Bac. subtilis-Stamm.

1 NaCl % Acetat %	2 % Red. Einzel- wirkung	3 % Red. Zweifach- komb.	4 Differenz 3 - 2	5 t - Test
$\frac{1}{2}$	$\frac{6,0}{22,8}$	23,6	$\frac{17,6}{0,8}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{1}{4}$	$\frac{6,0}{28,2}$	39,7	$\frac{33,7}{11,5}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{1}{6}$	$\frac{6,0}{39,3}$	81,3	$\frac{75,3}{42,0}$	$\overline{+}$
$\frac{1}{8}$	$\frac{6,0}{100,0}$	100,0	$\frac{94,0}{0}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{2}{2}$	$\frac{7,0}{22,8}$	27,8	$\frac{20,8}{5,0}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{2}{4}$	$\frac{7,0}{28,2}$	47,4	$\frac{40,4}{19,2}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{2}{6}$	$\frac{7,0}{39,3}$	81,3	$\frac{74,3}{42,0}$	$\overline{+}$
$\frac{2}{8}$	$\frac{7,0}{100,0}$	100,0	$\frac{93,0}{0}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{3}{2}$	$\frac{9,6}{22,8}$	64,1	$\frac{54,5}{41,3}$	$\overline{+}$
$\frac{3}{4}$	$\frac{9,6}{28,2}$	63,6	$\frac{54,0}{35,4}$	$\overline{+}$
$\frac{3}{6}$	$\frac{9,6}{39,3}$	100,0	$\frac{91,4}{60,7}$	$\overline{+}$
$\frac{3}{8}$	$\frac{9,6}{100,0}$	100,0	$\frac{91,4}{0}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{5}{2}$	$\frac{10,7}{22,8}$	63,6	$\frac{53,1}{40,8}$	$\overline{+}$
$\frac{5}{4}$	$\frac{10,7}{28,2}$	100,0	$\frac{89,3}{71,8}$	$\overline{+}$
$\frac{5}{6}$	$\frac{10,7}{39,3}$	100,0	$\frac{89,3}{60,7}$	$\overline{+}$
$\frac{5}{8}$	$\frac{10,7}{100,0}$	100,0	$\frac{89,3}{0}$	$\overline{+}$

Tabelle 9c:

Zusammenstellung der prozentualen Koloniezahlreduktion verursacht durch Einzel- und Kombinationswirkung von Kochsalz und Natriumacetat bei dem Bac. circulans-Stamm.

1	2	3	4	5
NaCl % Acetat %	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- komb.	Differenz 3 - 2	t - Test
$\frac{1}{2}$	$\frac{0}{0}$	47,9	$\frac{47,9}{47,9}$	$\frac{+}{+}$
$\frac{1}{4}$	$\frac{0}{55,1}$	83,2	$\frac{83,2}{28,1}$	$\frac{-}{+}$
$\frac{1}{6}$	$\frac{0}{88,1}$	100,0	$\frac{100,0}{11,9}$	$\frac{-}{+}$
$\frac{2}{2}$	$\frac{0}{0}$	63,2	$\frac{63,2}{63,2}$	$\frac{-}{+}$
$\frac{2}{4}$	$\frac{0}{55,1}$	99,0	$\frac{99,0}{43,9}$	$\frac{-}{+}$
$\frac{2}{6}$	$\frac{0}{88,1}$	100,0	$\frac{100,0}{11,9}$	$\frac{-}{+}$
$\frac{3}{2}$	$\frac{62,9}{0}$	95,8	$\frac{32,9}{95,8}$	$\frac{\emptyset}{-}$
$\frac{3}{4}$	$\frac{62,9}{55,1}$	98,4	$\frac{35,5}{43,3}$	$\frac{\emptyset}{-}$
$\frac{3}{6}$	$\frac{62,9}{88,1}$	100,0	$\frac{37,1}{11,9}$	$\frac{-}{+}$

7.) Kombinationen verschiedener Kochsalz- und Natriumdiacetat-konzentrationen

Durch den Zusatz von verschiedenen Kochsalz/Natriumdiacetat-kombinationen wurde der pH-Wert des Nährmediums deutlich beeinflusst, und zwar wurde er um etwa 1,2 bis 1,7 pH-Einheiten gesenkt.

Die kombinierte Wirkung verschiedener Kochsalz- und Natriumdiacetatkonzentrationen auf das Wachstum der Teststämme ist aus der Tabelle 10 zu ersehen. In den Tabellen 10 a bis 10 c wurden die Hemmwirkung der Salze in der Einzelwirkung und in der Kombination zusammengestellt.

Es zeigte sich, daß der Bac. cereus-Stamm schon bei der Kombination 1 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat signifikant in seinem Wachstum gehemmt wurde. Eine vollständige Wachstumsunterdrückung konnte durch folgende Kombinationen erreicht werden: 1 % und mehr NaCl/0,1 % und mehr Na-Diacetat; 2 % und mehr NaCl/0,08 % und mehr Na-Diacetat; 5 % NaCl/alle geprüften Na-Diacetatkonzentrationen.

Ein Vergleich der Hemmwirkungen der Einzelfaktoren und derjenigen der Kombinationen (siehe Tabelle 10 a) ergab, daß die Salzkombinationen eine stärkere Wachstums hemmung bewirkten als die Einzelsalze, mit einer Ausnahme (1 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat gegenüber der Na-Diacetateinzelwirkung). Die Unterschiede zwischen den Hemmwirkungen der Einzelfaktoren und denjenigen der Kombinationen erwiesen sich bei den Kombinationen mit 0,08 % Na-Diacetat und der Kombination 3 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat als signifikant, in den anderen Fällen als insignifikant.

Eine signifikante Wachstums hemmung des Bac. subtilis-Stammes setzte bei der Kombination 1 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat ein. Eine vollständige Wachstums hemmung war mit der Kombination 5 % NaCl/0,1 % Na-Diacetat möglich, das Wachstum wurde fast vollständig (Koloniezahlabnahme um 99 %) unterdrückt bei der

Kombination 5 % NaCl/0,08 % Na-Diacetat.

Ein Vergleich der Hemmwirkung der Einzelfaktoren mit der Hemmwirkung der Kombinationen (siehe Tabelle 10 b) ergab, daß die Kombinationen von 1 % Kochsalz mit 0,06; 0,08 und 0,1 % Na-Diacetat und von 2 % Kochsalz mit 0,08 und 0,1 % Na-Diacetat geringer wirksam waren als das Na-Diacetat allein. Der Unterschied zwischen den Hemmwirkungen erwies sich jedoch nur bei der Kombination 1 % NaCl/0,08 % Na-Diacetat als signifikant gegenüber der Diacetateinzelwirkung. Die übrigen Kombinationen wirkten stärker hemmend auf die Sporen des Teststammes als das Na-Diacetat allein. Der Unterschied der Hemmwirkungen war jedoch nur bei folgenden Kombinationen signifikant: 3 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat und 5 % NaCl mit 0,06 % und 0,08%Na-Diacetat.

Eine signifikante Wachstumshemmung des Bac. circulans-Stammes bestand ebenfalls bei der Kombination 1 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat. Eine vollständige Wachstumshemmung dieses Stammes konnte mit den Kombinationen 1 % und mehr NaCl/0,1 % Na-Diacetat und 2 % und mehr NaCl/0,06 % und mehr Na-Diacetat erreicht werden.

Ein Vergleich der Hemmwirkungen der Einzelfaktoren mit denjenigen der Kombinationen (siehe Tabelle 10 c) ergab nur bei den Kombinationen 2 % und 3 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat eine signifikant höhere Wachstumshemmung, als sie durch Na-Diacetat in der Einzelwirkung hervorgerufen worden war. Die übrigen Unterschiede in der Hemmwirkung waren statistisch insignifikant.

Tabelle 10:

Einfluss von Kombinationen verschiedener Kochsalz- und Natriumdiacetatkonzentrationen auf das Wachstum der drei Teststämme

Kochsalz- u. Natrium- diacetatkon- zentration	I												7												8											
	a			b			c			4			5			6			Koloniezahlen																	
	pH-Wert	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	Red.	s	p	Red.	s	p	Red.	s	p	Red.	s	p	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans																	
1% - 0,06%	5,52	5,60	72	63,1	4,3	160	17,1	8,6	24	85,7	7,0		74	63	66	72	66	183	180	163	170	145	24	34	41	37	18									
1% - 0,08%	5,23	5,25	3	98,5	0,8	133	31,1	5,1	0,4	99,8	0,8		82	89	70	67	2	147	163	128	161	155	10	24	3	27	25									
1% - 0,1%	5,10	5,13	0	100			43	77,3	9,0	0	100		2	2	3	4	2	151	145	124	120	133	3	1	0	0	0									
2% - 0,06%	5,45	5,54	28	85,6	3,2	120	37,8	8,3	0	100		2	6	5	2	2	0	123	137	136	127	130	0	0	0	0	0									
2% - 0,08%	5,18	5,23	0	100			105	45,6	7,5	0	100		0	0	0	0	0	19	15	48	46	56	0	0	0	0	0									
2% - 0,1%	5,08	5,12	0	100			48	75,1	2,9	0	100		0	0	0	0	0	70	54	43	40		0	0	0	0	0									
3% - 0,06%	5,45	5,55	3	98,5	0,7	97	49,7	4,4	0	100		26	42	19	28	26	139	125	137	118	126	0	0	0	0	0	0									
3% - 0,08%	5,18	5,28	0	100			69	64,4	2,3	0	100		32	25	29	28	119	109	110	120	101	0	0	0	0	0	0									
3% - 0,1%	5,00	5,05	0	100			32	83,4	3,7	0	100		0	0	0	0	0	116	97	109	121	88	0	0	0	0	0									
5% - 0,06%	5,38	5,42	0	100			46	76,2	4,9	0	100		0	0	0	0	0	115	97	98	105	106	0	0	0	0	0									
5% - 0,08%	5,08	5,10	0	100			2	99,0	0,8	0	100		4	4	4	6	3	54	52	47	50	53	0	0	0	0	0									
5% - 0,1%	5,02	5,08	0	100			0	100		0, 100		2	1	3	4		52	43	37	46	2	0	0	0	0	0	0									
Kontrolle	6,70	6,75	195				193				168		87				85	99	105	101	103	0	0	0	0	0	0									
													0	0	0	0	0	71	70	72	68	70	0	0	0	0	0									
													0	0	0	0	0	60	71	72	76	64	0	0	0	0	0									
													0	0	0	0	0	25	26	31	33	38	0	0	0	0	0									
													0	0	0	0	0	38	45	23	29	2	0	0	0	0	0									
													0	0	0	0	0	65	39	56	47	38	0	0	0	0	0									
													0	0	0	0	0	40	51	38	42	2	0	0	0	0	0									
													0	0	0	0	0	6	1	2	2	2	0	0	0	0	0									
													0	0	0	0	0	2	3	2	0	0	0	0	0	0	0									
													0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									
													0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									
													175	152	161	233	194	187	230	190	192	185	142	156	181	165	187									
													208	210	195	204	218	180	185	208	176	176	176	176	176	176	176									

Tabelle 10a:

Zusammenstellung der prozentualen Koloniezahlreduktion verursacht durch Einzel- und Kombinationswirkung von Kochsalz und Natriumdiacetat bei dem *Bac. cereus*-Stamm.

1	2	3	4	5
NaCl % Diacetat %	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- komb.	Differenz 3 - 2	t - Test
$\frac{1}{0,06}$	$\frac{0}{70,7}$	63,1	$\frac{63,1}{-7,6}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{1}{0,08}$	$\frac{0}{80,7}$	98,5	$\frac{98,5}{17,8}$	$\overline{+}$
$\frac{1}{0,1}$	$\frac{0}{97,1}$	100,0	$\frac{100,0}{2,9}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{2}{0,06}$	$\frac{56,0}{70,7}$	85,6	$\frac{29,6}{14,9}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{2}{0,08}$	$\frac{56,0}{80,7}$	100,0	$\frac{44,0}{19,3}$	$\overline{+}$
$\frac{2}{0,1}$	$\frac{56,0}{97,1}$	100,0	$\frac{44,0}{2,9}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{3}{0,06}$	$\frac{62,9}{70,7}$	98,5	$\frac{35,6}{27,8}$	$\overline{+}$
$\frac{3}{0,08}$	$\frac{62,9}{80,7}$	100,0	$\frac{38,1}{19,3}$	$\overline{+}$
$\frac{3}{0,1}$	$\frac{62,9}{97,1}$	100,0	$\frac{38,1}{2,9}$	$\overline{\emptyset}$

Tabelle 10b:

Zusammenstellung der prozentualen Koloniezahlreduktion verursacht durch Einzel- und Kombinationswirkung von Kochsalz und Natriumdiacetat bei dem Bac. subtilis-Stamm.

1	2	3	4	5
NaCl % Diacetat%	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- komb.	Differenz 3 - 2	t - Test
$\frac{1}{0,06}$	$\frac{6,0}{33,7}$	17,1	$\frac{11,1}{-16,6}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{1}{0,08}$	$\frac{6,0}{50,0}$	31,1	$\frac{24,1}{-18,9}$	$\overline{+}$
$\frac{1}{0,1}$	$\frac{6,0}{85,8}$	77,3	$\frac{71,3}{-8,5}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{2}{0,06}$	$\frac{7,0}{33,7}$	37,8	$\frac{42,6}{4,1}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{2}{0,08}$	$\frac{7,0}{50,0}$	45,6	$\frac{30,8}{-4,4}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{2}{0,1}$	$\frac{7,0}{85,8}$	75,1	$\frac{72,1}{-10,7}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{3}{0,06}$	$\frac{9,6}{33,7}$	49,7	$\frac{40,1}{16,0}$	$\overline{+}$
$\frac{3}{0,08}$	$\frac{9,6}{50,0}$	64,4	$\frac{54,8}{14,4}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{3}{0,1}$	$\frac{9,6}{85,8}$	83,4	$\frac{73,8}{-2,4}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{5}{0,06}$	$\frac{10,7}{33,7}$	76,2	$\frac{65,5}{42,5}$	$\overline{+}$
$\frac{5}{0,08}$	$\frac{10,7}{50,0}$	99,0	$\frac{88,3}{49,0}$	$\overline{+}$
$\frac{5}{0,1}$	$\frac{10,7}{85,8}$	100,0	$\frac{89,3}{14,2}$	$\overline{\emptyset}$

Tabelle 10c:

Zusammenstellung der prozentualen Koloniezahlreduktion verursacht durch Einzel- und Kombinationswirkung von Kochsalz und Natriumdiacetat bei dem Bac. circulans-Stamm.

1	2	3	4	5
NaCl % Diacetat %	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- komb.	Differenz 3 - 2	t - Test
$\frac{1}{0,06}$	$\frac{0}{85,7}$	85,7	$\frac{85,7}{0}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{1}{0,08}$	$\frac{0}{96,5}$	99,8	$\frac{99,8}{3,3}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{1}{0,1}$	$\frac{0}{100,0}$	100,0	$\frac{100,0}{0}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{2}{0,06}$	$\frac{0}{85,7}$	100,0	$\frac{100,0}{14,3}$	$\overline{+}$
$\frac{2}{0,08}$	$\frac{0}{96,5}$	100,0	$\frac{100,0}{3,5}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{2}{0,1}$	$\frac{0}{100,0}$	100,0	$\frac{100,0}{0}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{3}{0,06}$	$\frac{62,9}{85,7}$	100,0	$\frac{37,1}{14,3}$	$\overline{+}$
$\frac{3}{0,08}$	$\frac{62,9}{96,5}$	100,0	$\frac{37,1}{3,5}$	$\overline{\emptyset}$
$\frac{3}{0,1}$	$\frac{62,9}{100,0}$	100,0	$\frac{37,1}{0}$	$\overline{\emptyset}$

8.) Kombinationen verschiedener pH-Werte, Kochsalz- und Natriumacetatkonzentrationen

Durch den Zusatz von Kochsalz und Natriumacetat in verschiedenen Konzentrationen wurde der pH-Wert der Nährmedien verändert, und zwar wurden die auf 5,5 und 6,0 eingestellten pH-Werte um etwa 0,5 bis 1,2 pH-Einheiten mit steigenden Salzkonzentrationen erhöht.

Die kombinierte Wirkung verschiedener Kochsalz- und Natriumacetatkonzentrationen bei ursprünglichen pH-Werten von 5,5 und 6,0 auf das Wachstum der Teststämme ist aus der Tabelle 11 zu ersehen. In den Tabellen 11 a bis 11 c wurden die Hemmwirkungen der Einzelfaktoren und diejenigen der Kombinationen Kochsalz/pH-Werte und Kochsalz/Natriumacetat den Hemmwirkungen der Kombinationen Kochsalz/Natriumacetat/pH gegenübergestellt.

Es zeigte sich, daß der *Bac. cereus*-Stamm mit der Kombination pH 6,0/1 % NaCl/0,5 % Na-Acetat signifikant in seinem Wachstum gehemmt wurde. Eine vollständige Unterdrückung des Wachstums konnte mit folgenden Kombinationen erreicht werden: pH 5,5 und 6,0/1 % und mehr NaCl/2 % und mehr Na-Acetat; pH 6,0/3 % und mehr NaCl/1 % Na-Acetat. Eine nahezu vollständige Wachstums- hemmung (mehr als 99 % Reduktion) bewirkten die Kombinationen pH 5,5/3 % NaCl/1 % Na-Acetat und pH 6,0/2 % NaCl/1 % Na-Acetat.

Ein Vergleich der Hemmwirkungen der NaCl/Na-Acetat/pH-Kombination mit denjenigen der Einzelfaktoren (siehe Tabelle 11 a) ergab, daß die Kombinationen pH 5,5/1 % NaCl/0,5 % Na-Acetat; pH 5,5/1 % NaCl/1,0 % Na-Acetat; pH 6,0/1 % NaCl/0,5 % Na-Acetat und pH 6,0/1 % NaCl/1,0 % Na-Acetat weniger wirksam waren als der Acetatzusatz allein oder die pH-Wert-Erniedrigung, wobei der Unterschied zwischen Kombinations- und Einzelwirkung nicht in allen Fällen signifikant war.

Beim Vergleich der Hemmwirkung von Kochsalz/Natriumacetatkombinationen mit derjenigen von Kochsalz/Natriumacetat/pH 5,5 oder pH 6,0-Kombinationen zeigte sich, daß die Wachstumshemmung des Teststammes durch Kochsalz/Natriumacetat/pH-Kombinationen etwa gleich oder geringer war als diejenige der vergleichbaren Kochsalz/Natriumacetat-Kombinationen, wobei sich die Unterschiede jedoch nicht in allen Fällen als signifikant erwiesen. Da die NaCl/pH-Wert-Kombinationen bei dieser Versuchsserie stets geringer wirksam waren als die NaCl/Acetat-Kombinationen, erübrigt sich ein Vergleich zwischen NaCl/pH-Wert- und NaCl/Acetat/pH-Wert-Kombinationen.

Eine signifikante Wachstumshemmung des Bac. subtilis-Stammes begann bei den folgenden Kombinationen: pH 6,0/1 % NaCl/2 % Na-Acetat; pH 6,0/2 % NaCl/0,5 % Na-Acetat.

Eine vollständige Wachstumshemmung konnte durch die Kombinationen pH 6,0/2 % NaCl/4,0 % Na-Acetat und pH 5,5/5 % NaCl/2 % und mehr Na-Acetat erreicht werden.

Ein Vergleich der Hemmwirkungen der NaCl/Na-Acetat/pH-Kombinationen mit denjenigen der Einzelfaktoren ergab in fast allen Versuchen eine Steigerung der Hemmwirkungen durch die Kombinationen. Lediglich in drei Fällen (pH 5,5/3 % NaCl/0,5 % Na-Acetat; pH 5,5/3 % NaCl/1 % Na-Acetat; pH 6,0/2 % NaCl/0,5 % Na-Acetat) wurde der Teststamm durch die pH-Einzelwirkung stärker gehemmt als durch die Kombinationen, wobei sich die Unterschiede in den Hemmwirkungen allerdings als insignifikant erwiesen. Die verstärkte Hemmwirkung der Kombinationen erwies sich in der Mehrzahl der Versuche als signifikant (siehe Tabelle 11 b).

Aus der Tabelle 11 b ist ferner zu ersehen, daß die Kombinationen pH/NaCl/Na-Acetat mit wenigen Ausnahmen eine stärkere Hemmwirkung aufwiesen als die NaCl/Na-Acetat- und die NaCl/pH-Wert-Kombinationen. Die Ausnahmen waren: pH 5,5/3 % NaCl/2 % Na-Acetat gegenüber 3 % NaCl/2 % Na-Acetat; pH 6,0/3 % NaCl/0,5 % Na-Acetat gegenüber 3 % NaCl/pH 6,0 und pH 6,0/3 % NaCl/2 % Na-Acetat gegenüber 3 % NaCl/2 % Na-Acetat, wobei je-

doch nur im letzten Fall der Unterschied signifikant war. Auch die in den Versuchen sich abzeichnende verstärkte Hemmwirkung der Dreifachkombinationen war nicht in allen Fällen so deutlich, daß die Unterschiede gegenüber der Hemmwirkung der Zweifachkombinationen signifikant wurden (siehe Tabelle 11 b).

Eine signifikante Wachstumshemmung des Bac. circulans-Stammes begann bei den Kombinationen pH 5,5/1 % NaCl/1 % Na-Acetat und pH 6,0/1 % NaCl/2 % Na-Acetat. Eine vollständige Unterdrückung des Wachstums konnte mit folgenden Kombinationen erreicht werden: pH 5,5/3 % und mehr NaCl/3 % und mehr Na-Acetat; pH 6,0/2 % und mehr NaCl/4 % Na-Acetat und pH 6,0/5 % NaCl/1 % und mehr Na-Acetat.

Ein Vergleich der Hemmwirkungen der pH/NaCl/Na-Acetat-Kombinationen mit denjenigen der Einzelfaktoren (siehe Tabelle 11 c) zeigte bei den Kombinationen mit pH 5,5 bis zur Kombination pH 5,5/2 % NaCl/3 % Na-Acetat eine geringere Hemmwirkung, als sie durch die pH-Wirkung allein hervorgerufen wurde, wobei der Unterschied in der Mehrzahl der Fälle signifikant war. Dagegen war die Hemmwirkung der Kombinationen gegenüber der Einzelwirkung der Salze in fast allen Versuchen signifikant höher. Ab der Kombination 2 % NaCl/4 % Na-Acetat/pH 5,5 zeigte sich eine erhöhte Hemmwirkung der Dreifachkombinationen gegenüber denjenigen der Einzelfaktoren einschließlich pH-Wert, die in vielen Fällen signifikant war. Bei den Kombinationen der Salze mit pH 6,0 zeigte sich dagegen mit drei Ausnahmen (pH 6,0/1 % NaCl/1 % Na-Acetat; pH 6,0/1 % NaCl/2 % Na-Acetat; pH 6,0/2 % NaCl/1 % Na-Acetat gegenüber der pH-Einzelwirkung) eine höhere Hemmwirkung der pH/NaCl/Acetat-Kombinationen gegenüber allen Einzelfaktoren, wobei die Unterschiede in der Hemmwirkung jedoch nicht in allen Fällen signifikant waren.

Aus der Tabelle 11 c ist ferner zu ersehen, daß die Kombinationen pH/NaCl/Na-Acetat - mit Ausnahme der Kombinationen mit 4 % Na-Acetat und der Kombinationen pH 5,5/3 % NaCl/3 % Na-Acetat; pH 6,0/1 % NaCl/3 % Na-Acetat und pH 6,0/2 % NaCl/3 % Na-Acetat - weniger wirksam waren, als die NaCl/pH-Kombinationen.

nen. Die Unterschiede zwischen den Hemmwirkungen der Dreifachkombinationen und denen der NaCl/pH-Kombinationen erwiesen sich jedoch in der Mehrzahl als statistisch insignifikant. Die Differenz der Hemmwirkung der NaCl/Acetat/pH-Kombinationen gegenüber derjenigen der NaCl/Acetat-Kombinationen betrug in einem Versuch (pH 5,5/2 % NaCl/2 % Acetat) 17,4 %, der Unterschied war hier signifikant. In den übrigen Versuchen schwankte die Differenz zwischen $\pm 1,6$ bis 9,2 %, diese Differenzen erwiesen sich sämtlich als statistisch insignifikant.

Einfluß von Kombinationen verschiedener pH-Werte, Kochsalz- und Natriumacetatkonzentrationen auf das Wachstum der drei Teststämme

[illegible]

Tabelle 11: Fortsetzung

I										a 2 b			a 3 b			a 4 b			a 5 b			6			7			8									
pH 5,5										Bac.cereus			Bac.subtilis			Bac.circulans			Bac.cereus			Bac.subtilis			Bac.circulans												
Kochsalz- u. Natriumacetat- vor nach Befruchtung										x Red. sp			x Red. sp			x Red. sp																					
Konzentration										p			p			p																					
5% - 1,0%										6,08	6,11	0	100			35	83,1	4,8				0	0	0	0	30	27	40	26	47	0	0	0	0			
														III										42	17	42	45	32	0	0	0	0					
5% - 2,0%										6,32	6,41				0	100									0	0	0	0	0								
														III									0	0	0	0	0										
5% - 3,0%										6,50	6,51				0	100									0	0	0	0	0								
														III									0	0	0	0	0										
5% - 4,0%										6,60	6,62				0	100									0	0	0	0	0								
														III									0	0	0	0	0										
Kontrolle I										6,70	6,83	142			432			211				153	140	160	131	125	432	420	439	440	430	208	208	228	205	209	
																																208	215	218	207	201	
Kontrolle II										6,72	6,88				210											222	183	226	194	226							
Kontrolle III										6,92	6,98				207											254	175	192	205	219							
pH 6,0																																					
1% - 0,5%										6,36	6,42	109	23,2	9,7																							
1% - 1,0%										6,38	6,48	93	34,5	9,9				220	0	6,5																	
1% - 2,0%										6,60	6,66	0	100			261	39,6	5,9	130	38,4	6,2	0	0	0	0	0	260	258	295	288	208						
																I																					
1% - 3,0%										6,71	6,78				240	44,4	8,8	95	55,0	8,2																	
																I																					
1% - 4,0%										6,80	6,88				159	63,2	5,1	140	81,0	3,6																	
																I																					
2% - 0,5%										6,27	6,35	29	79,6	3,0	347	19,7	6,5	88	58,3	6,5		32	28	25	35	32	329	388	370	390	330	118	101	81	73	83	
																I																					
2% - 1,0%										6,38	6,51	0,1	99,9			221	48,8	5,3	101	52,2	6,3	1	0	0	0	0	221	171	214	215	221	101	104	105	97	99	
																I																					
2% - 2,0%										6,59	6,71	0	100			57	72,9	4,8	67	68,2	6,8	0	0	0	0	0	40	69	54	52	68	57	58	61	88	96	
																II																					
2% - 3,0%										6,69	6,81				40	81,0	7,6	43	79,6	8,8																	
																II																					
2% - 4,0%										6,72	6,84				0	100		0	100																		
																II																					

Tabelle 11:

Fortsetzung

I	a			b			c			d			e			f			g			h		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
pH 6,0 Kochsalz- u. Natriumacetat- konzentration	pH-Wert			Bac.cereus			Bac.subtilis			Bac.circulans			Bac.cereus			Bac.subtilis			Bac.circulans					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
vor nach Bebrütung	K			Red. s _p			Red. s _p			Red. s _p			Bac.cereus			Bac.subtilis			Bac.circulans					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
3% - 0,5%	6,30 6,22 8			94,4 3,8			313			27,5 3,3			34 83,9 3,1			8 6 2 15			310 367 341 346 386			30 21 38 31 38		
	I																							
3% - 1,0%	5,30 6,35 0			100			295			31,7 2,5			17 91,9 4,7			0 0 0 0 0			356 265 284 337 286			8 9 17 29 38		
	I																							
3% - 2,0%	6,39 6,56 0			100			275			36,3 5,4			13 93,8 1,9			0 0 0 0 0			320 252 258 284 291			13 15 16 17 17		
	I																							
3% - 3,0%	6,59 6,70						170			40,6 4,3			3 98,6 0,9			0 0 0 0 0			152 195 182 161 186			5 1 5 2 1		
	I																							
3% - 4,0%	6,80 6,78						57			86,8 4,0			0 100			0 0 0 0 0			46 52 63 84 88			0 0 0 0 0		
	I																							
5% - 1,0%	6,42 6,50 0			100			79			61,8 4,9						0 0 0 0 0			98 77 83 77 84			0 0 0 0 0		
	III																							
5% - 2,0%	6,60 6,61						32			84,5 4,1						0 0 0 0 0			37 40 29 22 33			0 0 0 0 0		
	III																							
5% - 3,0%	6,70 6,76						6			97,1 1,8						0 0 0 0 0			4 3 9 2 1			0 0 0 0 0		
	II																							
5% - 4,0%	6,80 6,79						1,2			99,4 1,0						0 0 0 0 0			6 1 3 2 0			0 0 0 0 0		
	III																							
Kontrolle I	6,70 6,83 142						432			211			153 140 160 131 125			432 420 439 440 430			208 208 228 205 209					
Kontrolle II	6,72 6,88						210						222 183 226 194 226			210			254 175 192 205 219					
Kontrolle III	6,92 6,98						207						198 209			254 175 192 205 219			198 209					

Tabelle 11a:

Zusammenstellung der prozentualen Koloniezahlreduktion verursacht durch Einzel- und Kombinationswirkung von pH 5,5 und 6,0, Kochsalz und Natriumacetat bei dem *Bac. cereus*-Stamm.

1	2	3	4	5		6	
pH-Wert NaCl % Acetat %	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- Komb.	% Red. Dreifach- Komb.	Differenz		t - Test	
				4-2	4-3	4-2	4-3
5,5	72,7	43,0		-37,5		+	Ø
1,0	6,0	54,4	35,2	-29,2	-7,8	+	Ø
0,5	46,6			-11,4	-19,2	Ø	Ø
5,5	72,7	43,0		-35,4		+	Ø
1,0	6,0	72,5	37,3	-31,3	-5,7	+	Ø
1,0	63,1			-25,8	-35,2	+	+
5,5	72,7	43,0		27,3		—	—
1,0	6,0	100,0	100,0	94,0	57,0	—	—
2,0	100,0			0	0	Ø	Ø
5,5	72,7	69,5		0,2		—	—
2,0	56,0	92,4	72,5	16,5	3,0	—	—
0,5	46,6			25,9	-19,9	Ø	+
5,5	72,7	69,5		25,2		+	—
2,0	56,0	99,8	97,9	41,9	28,4	+	—
1,0	63,1			34,8	-1,9	—	Ø
5,5	72,7	81,5		21,7		—	—
3,0	80,0	99,6	94,4	14,4	12,9	+	—
0,5	46,6			47,8	-5,9	—	+
5,5	72,7	81,5		27,0		—	—
3,0	80,0	99,9	99,7	19,7	18,2	+	—
1,0	63,1			36,6	-0,2	—	Ø
6,0	37,1	40,4		-13,9		Ø	Ø
1,0	6,0	40,9	23,2	17,2	-17,2	—	Ø
0,5	46,0			-23,4	-17,7	+	Ø
6,0	37,1	40,4		-2,6		Ø	Ø
1,0	6,0	54,4	34,5	28,5	-19,9	—	Ø
1,0	63,1			-28,6		Ø	Ø

Tabelle 11b:

Zusammenstellung der prozentualen Koloniezahlreduktion verursacht durch Einzel- und Kombinationswirkung von pH 5,5 und 6,0, Kochsalz und Natriumacetat bei dem Bac. subtilis-Stamm.

1	2	3	4	5		6	
pH-Wert NaCl % Acetat %	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- komb.	% Red. Dreifach- komb.	Differenz		t - Test	
				4 - 2	4 - 3	4 - 2	4 - 3
5,5 1,0 2,0	36,1 6,0 22,8	9,3 23,6	65,7	29,6 59,7 42,9	56,4 42,1	+	+
5,5 1,0 3,0	36,1 6,0 22,8	9,3	60,9	24,8 54,9 38,1	51,6	Ø +	+
5,5 1,0 4,0	36,1 6,0 28,2	9,3 39,7	69,0	32,9 63,0 40,9	59,7 29,3	+	+
5,5 2,0 0,5	36,1 7,0 7,0	15,7	42,1	6,0 35,1	26,4	Ø Ø	+
5,5 2,0 1,0	36,1 7,0 11,2	15,7	48,4	12,3 41,4 37,2	32,7	Ø +	+
5,5 2,0 2,0	36,1 7,0 22,8	15,7 27,8	86,2	50,1 79,2 63,4	70,5 58,4	+	+
5,5 2,0 3,0	36,1 7,0 22,8	15,7	79,5	43,4 72,5 56,7	63,8	+	+
5,5 2,0 4,0	36,1 7,0 28,2	15,7 47,4	89,5	53,4 82,5 61,3	73,8 42,1	+	+
5,5 3,0 0,5	36,1 9,6	30,2	32,4	- 3,7 22,8	2,2	Ø +	Ø
5,5 1,0 1,0	36,1 9,6 11,2	30,2	34,5	- 1,6 24,9 23,3	4,3	Ø +	Ø

Tabelle 11b:

Fortsetzung

1	2	3	4	5		6	
pH-Wert NaCl % Acetat %	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- Komb.	% Red. Dreifach- komb.	Differenz 4 - 2 4 - 3		t - Test 4 - 2 4 - 3	
$\frac{5,5}{3,0}$ $\frac{2,0}{2,0}$	$\frac{36,1}{9,6}$ $\frac{22,8}{22,8}$	30,2 64,1	57,6	$\frac{21,5}{48,0}$ $\frac{34,8}{34,8}$	$\frac{27,4}{-6,5}$	$\frac{\emptyset}{+}$	$\frac{\emptyset}{\emptyset}$
$\frac{5,5}{3,0}$ $\frac{3,0}{3,0}$	$\frac{36,1}{9,6}$ $\frac{22,8}{22,8}$	30,2	77,5	$\frac{41,4}{67,9}$ $\frac{54,7}{54,7}$	$\frac{47,3}{\quad}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{+}{\quad}$
$\frac{5,5}{3,0}$ $\frac{4,0}{4,0}$	$\frac{36,1}{9,6}$ $\frac{28,2}{28,2}$	30,2 63,6	95,8	$\frac{59,7}{86,2}$ $\frac{67,6}{67,6}$	$\frac{65,6}{32,2}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{\quad}{+}$
$\frac{5,5}{5,0}$ $\frac{1,0}{1,0}$	$\frac{36,1}{10,7}$ $\frac{11,2}{11,2}$	55,9	83,1	$\frac{47,0}{72,4}$ $\frac{71,9}{71,9}$	$\frac{27,2}{\quad}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{+}{\quad}$
$\frac{5,5}{5,0}$ $\frac{2,0}{2,0}$	$\frac{36,1}{10,7}$ $\frac{22,8}{22,8}$	55,9 63,6	100,0	$\frac{63,9}{89,3}$ $\frac{77,2}{77,2}$	$\frac{44,1}{36,4}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{+}{+}$
$\frac{5,5}{5,0}$ $\frac{3,0}{3,0}$	$\frac{36,1}{10,7}$ $\frac{22,8}{22,8}$	55,9	100,0	$\frac{63,9}{89,3}$ $\frac{77,2}{77,2}$	$\frac{44,1}{\quad}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{+}{\quad}$
$\frac{5,5}{5,0}$ $\frac{4,0}{4,0}$	$\frac{36,1}{10,7}$ $\frac{28,2}{28,2}$	55,9 100,0	100,0	$\frac{63,9}{89,3}$ $\frac{77,8}{77,8}$	$\frac{44,1}{0}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{+}{\quad}$
$\frac{6,0}{1,0}$ $\frac{2,0}{2,0}$	$\frac{26,0}{6,0}$ $\frac{22,8}{22,8}$	18,0 23,9	39,6	$\frac{13,6}{33,6}$ $\frac{16,8}{16,8}$	$\frac{21,6}{15,7}$	$\frac{\emptyset}{+}$	$\frac{\emptyset}{\emptyset}$
$\frac{6,0}{1,0}$ $\frac{3,0}{3,0}$	$\frac{26,0}{6,0}$ $\frac{22,8}{22,8}$	18,0	44,4	$\frac{18,4}{38,4}$ $\frac{21,6}{21,6}$	$\frac{26,4}{\quad}$	$\frac{\emptyset}{\emptyset}$	$\frac{\emptyset}{\emptyset}$
$\frac{6,0}{1,0}$ $\frac{4,0}{4,0}$	$\frac{26,0}{6,0}$ $\frac{28,2}{28,2}$	18,0 39,7	63,2	$\frac{37,2}{57,2}$ $\frac{35,0}{35,0}$	$\frac{45,2}{23,5}$	$\frac{\quad}{+}$	$\frac{\quad}{+}$
$\frac{6,0}{2,0}$ $\frac{0,5}{0,5}$	$\frac{26,0}{7,0}$	2,9	19,7	$\frac{-6,3}{12,7}$	$\frac{16,8}{\quad}$	$\frac{\emptyset}{\emptyset}$	$\frac{\emptyset}{\emptyset}$

Tabelle 11b:

Fortsetzung

1	2	3	4	5		6	
				Differenz		t - Test	
pH-Wert NaCl % Acetat %	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- komb.	% Red. Dreifach- komb.	4 - 2	4 - 3	4 - 2	4 - 3
<u>6,0</u> <u>2,0</u> <u>1,0</u>	<u>26,0</u> <u>7,0</u> <u>11,2</u>	2,9	48,8	<u>22,8</u> <u>41,8</u> <u>37,6</u>	<u>45,9</u>	<u>+</u> <u>+</u>	<u>+</u>
<u>6,0</u> <u>2,0</u> <u>2,0</u>	<u>26,0</u> <u>7,0</u> <u>22,8</u>	2,9 27,8	72,9	<u>46,9</u> <u>65,9</u> <u>50,1</u>	<u>70,0</u> <u>45,1</u>	<u>+</u> <u>+</u>	<u>+</u>
<u>6,0</u> <u>2,0</u> <u>3,0</u>	<u>26,0</u> <u>7,0</u> <u>22,8</u>	2,9	81,0	<u>55,0</u> <u>74,0</u> <u>58,2</u>	<u>78,1</u>	<u>+</u> <u>+</u>	<u>+</u>
<u>6,0</u> <u>2,0</u> <u>4,0</u>	<u>26,0</u> <u>7,0</u> <u>28,2</u>	2,9 47,4	100,0	<u>74,0</u> <u>93,0</u> <u>71,8</u>	<u>97,1</u> <u>52,6</u>	<u>+</u> <u>+</u>	<u>+</u>
<u>6,0</u> <u>3,0</u> <u>0,5</u>	<u>26,0</u> <u>9,6</u>	30,2	27,5	<u>1,5</u> <u>17,9</u>	<u>- 2,7</u>	<u>∅</u> <u>+</u>	<u>∅</u>
<u>6,0</u> <u>3,0</u> <u>1,0</u>	<u>26,0</u> <u>9,6</u> <u>11,2</u>	30,2	31,7	<u>5,7</u> <u>22,1</u> <u>20,5</u>	<u>1,5</u>	<u>∅</u> <u>+</u>	<u>∅</u>
<u>6,0</u> <u>3,0</u> <u>2,0</u>	<u>26,0</u> <u>9,6</u> <u>22,8</u>	30,2 64,1	36,3	<u>10,3</u> <u>26,7</u> <u>13,5</u>	<u>6,1</u> <u>- 27,8</u>	<u>∅</u> <u>∅</u>	<u>+</u>
<u>6,0</u> <u>3,0</u> <u>3,0</u>	<u>26,0</u> <u>9,6</u> <u>22,8</u>	30,2	40,6	<u>14,6</u> <u>31,0</u> <u>17,8</u>	<u>10,4</u>	<u>∅</u> <u>∅</u>	<u>∅</u>
<u>6,0</u> <u>3,0</u> <u>4,0</u>	<u>26,0</u> <u>9,6</u> <u>28,2</u>	30,2 63,6	86,8	<u>60,8</u> <u>77,2</u> <u>58,6</u>	<u>56,6</u> <u>23,2</u>	<u>—</u> <u>∅</u>	<u>+</u> <u>+</u>
<u>6,0</u> <u>5,0</u> <u>1,0</u>	<u>26,0</u> <u>10,7</u> <u>11,2</u>	25,1	61,8	<u>35,8</u> <u>51,1</u> <u>50,6</u>	<u>36,7</u>	<u>+</u> <u>+</u>	<u>+</u>
<u>6,0</u> <u>5,0</u> <u>2,0</u>	<u>26,0</u> <u>10,7</u> <u>22,8</u>	25,1 63,6	84,5	<u>58,5</u> <u>73,8</u> <u>61,7</u>	<u>59,4</u> <u>20,9</u>	<u>+</u> <u>+</u>	<u>+</u> <u>+</u>
<u>6,0</u> <u>5,0</u> <u>3,0</u>	<u>26,0</u> <u>10,7</u> <u>22,8</u>	25,1	97,1	<u>71,1</u> <u>86,4</u> <u>74,3</u>	<u>72,0</u>	<u>+</u> <u>+</u>	<u>+</u>
<u>6,0</u> <u>5,0</u> <u>4,0</u>	<u>26,0</u> <u>10,7</u> <u>28,2</u>	25,1 100,0	99,5	<u>73,5</u> <u>88,8</u> <u>71,3</u>	<u>74,4</u> <u>- 0,5</u>	<u>+</u> <u>+</u>	<u>+</u> <u>∅</u>

Tabelle 11c:

Zusammenstellung der prozentualen Koloniezahlreduktion verursacht durch Einzel- und Kombinationswirkung von pH 5,5 und 6,0, Kochsalz und Natriumacetat bei dem Bac. circulans-Stamm.

1	2	3	4	5		6	
pH-Wert NaCl % Acetat %	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- komb.	% Red. Dreifach- komb.	Differenz		t - Test	
				4 - 2	4 - 3	4 - 2	4 - 3
5,5 1,0 1,0	95,4 0 0	74,6	23,2	-72,2 23,2 23,2	-51,4	+	+
5,5 1,0 2,0	95,4 0 0	74,6 47,6	45,5	-50,1 45,5 45,5	-29,1 -2,1	+	+
5,5 1,0 3,0	95,4 0 46,5	74,6	64,9	-30,5 64,9 18,4	-9,7	+	Ø
5,5 1,0 4,0	95,4 0 55,1	74,6 83,2	88,3	-7,1 88,3 33,2	13,7 5,1	+	+
5,5 2,0 0,5	95,4 0	87,0	71,1	-24,3 71,1	-15,9	+	Ø
5,5 2,0 1,0	95,4 0 0	87,0	64,9	-30,5 64,9 64,9	-22,1	+	+
5,5 2,0 2,0	95,4 0 0	87,0 63,2	80,6	-14,8 80,6 80,6	-6,4 17,4	+	Ø
5,5 2,0 3,0	95,4 0 46,5	87,0	86,3	-9,1 86,3 39,8	-0,7	Ø	Ø
5,5 2,0 4,0	95,4 0 55,1	87,0 99,0	97,6	2,2 97,6 42,5	10,6 -1,4	Ø	Ø
5,5 3,0 0,5	95,4 62,9	99,6	98,6	3,2 36,3	-1,0	Ø	Ø
5,5 3,0 1,0	95,4 62,9 0	99,6	97,6	2,2 34,7 97,6	-2,0	Ø	Ø
5,5 3,0 2,0	95,4 62,9 0	99,6 95,6	98,1	2,7 35,2 98,1	-1,5 2,3	Ø	Ø

Tabelle 11c:

Fortsetzung

1	2	3	4	5	6
pH-Wert NaCl % Acetat %	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- komb.	% Red. Dreifach- komb.	Differenz 4 - 2 4 - 3	t - Test 4 - 2 4 - 3
$\frac{5,5}{3,0}$ $\frac{3,0}{3,0}$	$\frac{95,4}{62,9}$ $\frac{46,5}{46,5}$	99,6	100,0	$\frac{4,6}{37,1}$ $\frac{53,5}{53,5}$	$\frac{0,4}{+}$ $\frac{+}{+}$ $\frac{\emptyset}{\emptyset}$
$\frac{5,5}{3,0}$ $\frac{4,0}{4,0}$	$\frac{95,4}{62,9}$ $\frac{55,1}{55,1}$	99,6 98,4	100,0	$\frac{4,6}{37,1}$ $\frac{44,9}{44,9}$	$\frac{0,4}{1,6}$ $\frac{+}{+}$ $\frac{\emptyset}{\emptyset}$
$\frac{6,0}{1,0}$ $\frac{1,0}{1,0}$	$\frac{53,3}{0}$ $\frac{0}{0}$	49,3	0	$\frac{-53,3}{0}$ $\frac{0}{0}$	$\frac{+}{+}$ $\frac{+}{+}$ $\frac{+}{+}$
$\frac{6,0}{1,0}$ $\frac{2,0}{2,0}$	$\frac{53,3}{0}$ $\frac{0}{0}$	49,3 47,6	38,4	$\frac{-14,9}{38,4}$ $\frac{38,4}{38,4}$	$\frac{-10,9}{-9,2}$ $\frac{\emptyset}{+}$ $\frac{\emptyset}{\emptyset}$
$\frac{6,0}{1,0}$ $\frac{3,0}{3,0}$	$\frac{53,3}{0}$ $\frac{46,5}{46,5}$	49,3	55,0	$\frac{1,7}{55,0}$ $\frac{8,5}{8,5}$	$\frac{5,7}{\emptyset}$ $\frac{\emptyset}{\emptyset}$ $\frac{\emptyset}{\emptyset}$
$\frac{6,0}{1,0}$ $\frac{4,0}{4,0}$	$\frac{53,3}{0}$ $\frac{55,1}{55,1}$	49,3 83,2	81,0	$\frac{27,7}{81,0}$ $\frac{25,9}{25,9}$	$\frac{-31,7}{-2,2}$ $\frac{+}{+}$ $\frac{\emptyset}{\emptyset}$
$\frac{6,0}{2,0}$ $\frac{0,5}{0,5}$	$\frac{53,3}{0}$ $\frac{0}{0}$	71,0	58,3	$\frac{5,0}{58,3}$ $\frac{58,3}{58,3}$	$\frac{-12,7}{+}$ $\frac{\emptyset}{+}$ $\frac{\emptyset}{\emptyset}$
$\frac{6,0}{2,0}$ $\frac{1,0}{1,0}$	$\frac{53,3}{0}$ $\frac{0}{0}$	71,0	52,2	$\frac{-1,1}{52,2}$ $\frac{52,2}{52,2}$	$\frac{-18,8}{+}$ $\frac{\emptyset}{+}$ $\frac{+}{+}$
$\frac{6,0}{2,0}$ $\frac{2,0}{2,0}$	$\frac{53,3}{0}$ $\frac{0}{0}$	71,0 63,2	68,2	$\frac{14,9}{68,2}$ $\frac{68,2}{68,2}$	$\frac{-2,8}{5,0}$ $\frac{\emptyset}{+}$ $\frac{\emptyset}{\emptyset}$
$\frac{6,0}{2,0}$ $\frac{3,0}{3,0}$	$\frac{53,3}{0}$ $\frac{46,5}{46,5}$	71,0	79,6	$\frac{26,3}{79,6}$ $\frac{43,1}{43,1}$	$\frac{8,6}{+}$ $\frac{+}{+}$ $\frac{\emptyset}{\emptyset}$

Tabelle 11c:

Fortsetzung

1	2	3	4	5		6	
pH-Wert NaCl % Acetat %	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- komb.	% Red. Dreifach- komb.	Differenz		t - Test	
				4 - 2	4 - 3	4 - 2	4 - 3
6,0 2,0 4,0	53,3 0 55,1	71,0 99,0	100,0	46,7 100,0 44,9	29,0 1,0	+	+
6,0 3,0 0,5	53,3 62,9	98,8	83,9	30,6 21,0	-14,9	+	+
6,0 3,0 1,0	53,3 62,9 0	98,8	91,9	38,6 29,1 91,9	- 6,9	∅	∅
6,0 3,0 2,0	53,3 62,9 0	98,8 95,8	93,8	40,5 30,9 93,8	- 5,0 -2,0	∅	∅
6,0 3,0 3,0	53,3 62,9 46,5	98,8	98,6	45,3 35,7 52,1	- 0,2	∅	∅
6,0 3,0 4,0	53,3 62,9 55,1	98,8 98,4	100,0	46,7 37,1 44,9	1,2 1,6	+	∅

9.) Kombinationen verschiedener pH-Werte, Kochsalz- und Natriumdiacetatkonzentrationen.

Durch den Zusatz von Kochsalz und Natriumdiacetat zum Nährmedium wurde der auf 5,5 und 6,0 eingestellte pH-Wert deutlich gesenkt und zwar um 0,5 bis 1,1 pH-Einheiten. Die kombinierte Wirkung verschiedener Kochsalz- und Natriumdiacetatkonzentrationen bei ursprünglichen pH-Werten von 5,5 und 6,0 auf das Wachstum der Teststämme ist aus der Tabelle 12 zu ersehen. In den Tabellen 12 a bis 12 c wurden die Hemmwirkungen der Einzelfaktoren der NaCl/pH-Wert-Kombinationen und der NaCl/Na-Diacetat-Kombinationen mit denjenigen der pH/NaCl/Na-Diacetat-Kombinationen verglichen.

Es zeigte sich, daß der Bac. cereus-Stamm mit folgenden Kombinationen vollständig in seinem Wachstum gehemmt wurde: pH 5,5/1 % und mehr NaCl/0,06 % und mehr Na-Diacetat; pH 6,0/1 % und mehr NaCl/0,08 % Na-Diacetat; pH 6,0/3 % und mehr NaCl/0,06 % Na-Diacetat. Mit den Kombinationen pH 6,0/1 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat und pH 6,0/2 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat konnte das Wachstum um mehr als 99 % unterdrückt werden.

Ein Vergleich der Hemmwirkungen der pH/NaCl/Na-Diacetat-Kombinationen mit denjenigen der Einzelfaktoren (siehe Tabelle 12 a) ergab signifikante Steigerungen der Hemmwirkung durch die Dreifachkombinationen. pH/NaCl/Na-Diacetat-Kombinationen hatten auch im Vergleich zu den Zweifachkombinationen NaCl/pH und NaCl/Diacetat eine stärkere Hemmwirkung, die sich bei den Dreifachkombinationen mit 0,06 % Na-Diacetat als signifikant gegenüber den entsprechenden NaCl/Na-Diacetat-Kombinationen erwies.

Der Bac. subtilis-Stamm wurde von der Kombination pH 6,0/1 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat an signifikant in seinem Wachstum gehemmt. Eine vollständige Wachstumshehmung trat bei folgenden Kombinationen ein: pH 5,5/2 % und mehr NaCl/0,08 % Na-Diacetat; pH 5,5/3 % und mehr NaCl/0,06 % und mehr Na-Diacetat; pH 6,0/3 % und mehr NaCl/0,08 % Na-Diacetat; pH 6,0/5 % NaCl/0,06 % und mehr Na-Diacetat.

Es zeigte sich ferner (siehe Tabelle 12 b), daß die Kombinationen - mit einer Ausnahme - eine stärkere Wachstumshemmung bewirkten als die Einzelfaktoren. Dabei erwiesen sich die Unterschiede in fast allen Fällen als signifikant. Lediglich die Kombination pH 6,0/1 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat war weniger wirksam - jedoch statistisch insignifikant - als die Na-Diacetat-Einzelwirkung.

Aus der Tabelle 12 b ist ferner zu ersehen, daß mit einer Ausnahme (pH 6,0/2 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat) die H/NaCl/Na-Diacetat-Kombination eine stärkere Hemmwirkung ausübte, als die NaCl/pH- und NaCl/Na-Diacetat-kombinationen. Auch diese Unterschiede waren in fast allen Fällen signifikant.

Der Bac. circulans-Stamm wurde schon durch die Kombinationen 1 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat/pH 5,5 und 1 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat/pH 6,0 vollständig in seinem Wachstum gehemmt. Die Dreifachkombinationen wirkten signifikant stärker hemmend als die Einzelfaktoren. Die Unterschiede zwischen der Hemmwirkung der Dreifachkombinationen und denjenigen der Zweifachkombinationen erwiesen sich dagegen als statistisch insignifikant (Tabelle 12 c).

Tabelle 12:

Fortsetzung

1	2		3		4		5		6		7		8	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
pH 6,0	pH-Wert		Bac.cereus		Bac.subtilis		Bac.circulans		Bac.cereus		Bac.subtilis		Bac.circulans	
Kochsalz- u. Natriumdiacetatkonzentrations-	vor nach Bebrütung		$\bar{x}$		$\bar{x}$		$\bar{x}$		$\bar{x}$		$\bar{x}$		$\bar{x}$	
			Red. s _p		Red. s _p		Red. s _p							
3% - 0,08%	4,92	4,97	0	100	0	100	0	100	0	0	0	0	0	0
5% - 0,06%	5,02	5,00	0	100	0	100	0	100	0	0	0	0	0	0
5% - 0,08%	5,00	4,91	0	100	0	100	0	100	0	0	0	0	0	0
Kontrolle I	6,70	6,75	136	179	265				125 129 132 136 138 152	184 184 164 176 198	236 241 280 309			

Tabelle 12a:

Zusammenstellung der prozentualen Koloniezahlreduktion verursacht durch Einzel- und Kombinationswirkung von pH 5,5 und 6,0, Kochsalz und Natriumdiacetat bei dem *Bac. cereus*-Stamm.

1	2	3	4	5	6
pH-Wert NaCl % Diacetat %	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- komb.	% Red. Dreifach- komb.	Differenz 4 - 2 4 - 3	t - Test 4 - 2 4 - 3
5,5 1,0 0,06	72,7 6,0 70,7	43,0 63,1	100,0	27,3 94,0 29,3	57,0 36,9 + +
5,5 1,0 0,08	72,7 6,0 80,7	43,0 98,5	100,0	27,3 94,0 19,3	57,0 1,5 — +
5,5 2,0 0,06	72,7 56,0 70,7	69,5 85,6	100,0	27,3 44,0 29,3	30,5 14,4 — +
5,5 2,0 0,08	72,7 56,0 80,7	69,5 100,0	100,0	27,3 44,0 19,3	30,5 0 — +
6,0 1,0 0,06	37,1 6,0 70,7	40,4 63,1	99,9	62,8 93,9 29,2	59,5 35,8 — +
6,0 1,0 0,08	37,1 6,0 80,7	40,4 98,5	100,0	62,9 94,0 19,3	59,6 1,5 — +
6,0 2,0 0,06	37,1 56,0 70,7	66,2 85,6	99,7	62,6 43,7 29,0	33,5 14,1 — +
6,0 2,0 0,08	37,1 56,0 80,7	66,2 100,0	100,0	62,9 44,0 19,3	33,8 0 — +

Tabelle 12b:

Zusammenstellung der prozentualen Koloniezahlenreduktion verursacht durch Einzel- und Kombinationswirkung von pH 5,5 und 6,0, Kochsalz und Natriumdiacetat bei dem Bac. subtilis-Stamm.

pH-Wert NaCl % Diacetat%	2 % Red. Einzel- wirkung	3 % Red. Zweifach- komb.	4 % Red. Dreifach- komb.	5 Differenz		6 t - Test	
				4 - 2	4 - 3	4 - 2	4 - 3
$\frac{5,5}{1,0}$ $\frac{0,06}{0,06}$	$\frac{36,1}{6,0}$ $\frac{33,7}{33,7}$	9,3 17,1	71,5	$\frac{35,4}{65,5}$ $\frac{37,8}{37,8}$	$\frac{62,2}{54,4}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{-}{+}$
$\frac{5,5}{1,0}$ $\frac{0,08}{0,08}$	$\frac{36,1}{6,0}$ $\frac{50,0}{50,0}$	9,3 31,1	99,4	$\frac{63,3}{93,4}$ $\frac{49,4}{49,4}$	$\frac{90,1}{68,3}$	$\frac{-}{+}$	$\frac{-}{+}$
$\frac{5,5}{2,0}$ $\frac{0,06}{0,06}$	$\frac{36,1}{7,0}$ $\frac{33,7}{33,7}$	15,7 45,6	70,4	$\frac{34,3}{63,4}$ $\frac{36,7}{36,7}$	$\frac{54,7}{24,8}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{-}{+}$
$\frac{5,5}{2,0}$ $\frac{0,08}{0,08}$	$\frac{36,1}{7,0}$ $\frac{50,0}{50,0}$	15,7 37,8	100,0	$\frac{73,9}{93,0}$ $\frac{50,0}{50,0}$	$\frac{84,3}{62,2}$	$\frac{-}{+}$	$\frac{-}{+}$
$\frac{5,5}{3,0}$ $\frac{0,06}{0,06}$	$\frac{36,1}{9,6}$ $\frac{33,7}{33,7}$	30,2 49,7	100,0	$\frac{73,9}{90,4}$ $\frac{66,3}{66,3}$	$\frac{69,8}{50,3}$	$\frac{-}{+}$	$\frac{-}{+}$
$\frac{5,5}{3,0}$ $\frac{0,08}{0,08}$	$\frac{36,1}{9,6}$ $\frac{50,0}{50,0}$	30,2 64,4	99,7	$\frac{63,6}{90,1}$ $\frac{49,7}{49,7}$	$\frac{69,5}{35,3}$	$\frac{-}{+}$	$\frac{-}{+}$
$\frac{5,5}{5,0}$ $\frac{0,06}{0,06}$	$\frac{36,1}{10,7}$ $\frac{33,7}{33,7}$	55,9 76,2	100,0	$\frac{63,9}{89,3}$ $\frac{66,3}{66,3}$	$\frac{44,1}{23,8}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{-}{+}$
$\frac{5,5}{5,0}$ $\frac{0,08}{0,08}$	$\frac{36,1}{10,7}$ $\frac{50,0}{50,0}$	55,9 99,0	100,0	$\frac{73,9}{89,3}$ $\frac{50,0}{50,0}$	$\frac{44,1}{1,0}$	$\frac{-}{+}$	$\frac{-}{\emptyset}$
$\frac{6,0}{1,0}$ $\frac{0,06}{0,06}$	$\frac{26,0}{6,0}$ $\frac{33,7}{33,7}$	18,0 17,1	33,0	$\frac{7,0}{27,0}$ $\frac{0,7}{0,7}$	$\frac{15,0}{15,9}$	$\frac{-}{\emptyset}$	$\frac{+}{\emptyset}$
$\frac{6,0}{1,0}$ $\frac{0,08}{0,08}$	$\frac{26,0}{6,0}$ $\frac{50,0}{50,0}$	18,0 31,1	52,0	$\frac{26,0}{46,0}$ $\frac{2,0}{2,0}$	$\frac{34,0}{20,9}$	$\frac{-}{\emptyset}$	$\frac{+}{+}$

Tabelle 12b:

Fortsetzung

1	2	3	4	5	6
pH-Wert NaCl % Diacetat %	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- komb.	% Red. Dreifach- komb.	Differenz 4 - 2 4 - 3	t - Test 4 - 2 4 - 3
$\frac{6,0}{2,0}$ 0,06	$\frac{26,0}{7,0}$ 33,7	2,9 45,6	39,7	$\frac{13,7}{32,7}$ -5,9 6,0	$\frac{—}{\emptyset}$ $\frac{—}{\emptyset}$
$\frac{6,0}{2,0}$ 0,08	$\frac{26,0}{7,0}$ 50,0	2,9 37,8	80,4	$\frac{54,4}{73,4}$ 30,4	$\frac{77,5}{42,6}$ $\frac{—}{+}$ $\frac{—}{+}$
$\frac{6,0}{3,0}$ 0,06	$\frac{26,0}{9,6}$ 33,7	30,2 49,7	95,0	$\frac{69,0}{85,4}$ 61,3	$\frac{64,8}{45,3}$ $\frac{—}{+}$ $\frac{—}{+}$
$\frac{6,0}{3,0}$ 0,08	$\frac{26,0}{9,6}$ 50,0	30,2 64,4	100,0	$\frac{74,0}{90,4}$ 50,0	$\frac{69,8}{35,6}$ $\frac{—}{+}$ $\frac{—}{+}$
$\frac{6,0}{5,0}$ 0,06	$\frac{26,0}{10,7}$ 33,7	25,1 76,2	100,0	$\frac{74,0}{89,3}$ 66,3	$\frac{74,9}{23,8}$ $\frac{—}{+}$ $\frac{—}{+}$
$\frac{6,0}{5,0}$ 0,08	$\frac{26,0}{10,7}$ 50,0	25,1 99,0	100,0	$\frac{74,0}{50,0}$ 1,0	$\frac{74,9}{1,0}$ $\frac{—}{+}$ $\frac{—}{\emptyset}$

Tabelle 12c:

Zusammenstellung der prozentualen Koloniezahlreduktion verursacht durch Einzel- und Kombinationswirkung von pH 5,5 und 6,0, Kochsalz und Natriumdiacetat bei dem Bac. circulans-Stamm

1	2	3	4	5		6	
pH-Wert NaCl % Diacetat%	% Red. Einzel- wirkung	% Red. Zweifach- komb.	% Red. Dreifach- komb.	Differenz		t - Test	
				4 - 2	4 - 3	4 - 2	4 - 3
$\frac{5,5}{1,0}$ 0,06	$\frac{95,4}{0}$ 85,7	74,6 85,7	100,0	$\frac{4,6}{100,0}$ 14,3	$\frac{25,4}{14,3}$	$\frac{+}{-}$	$\frac{-}{\emptyset}$
$\frac{6,0}{1,0}$ 0,06	$\frac{53,3}{0}$ 85,7	49,3 85,7	100,0	$\frac{46,7}{100,0}$ 14,3	$\frac{50,7}{14,3}$	$\frac{-}{+}$	$\frac{-}{\emptyset}$

D. Besprechung der Ergebnisse und Diskussion

Nachfolgend werden zunächst die Vor- und Nachteile der angewandten Methodik und danach die Wirkungen der untersuchten pH-Werte und Salzkonzentrationen als Einzelkomponenten und in Kombinationen miteinander und das Verhalten der drei Teststämme gegenüber diesen Faktoren im Vergleich mit den Literaturangaben besprochen. Anschließend folgt eine zusammenfassende Besprechung der Versuchsergebnisse. Ferner werden die Auswirkungen der aus den Versuchen resultierenden Ergebnisse für die Praxis der Fleischwarenherstellung betrachtet.

I.) Besprechung der Versuchsmethode

Die bei den eigenen Untersuchungen angewandte, im Kapitel C II beschriebene Methodik, wies Vor- und Nachteile auf. Der Vorteil lag vor allem darin, daß es möglich war, durch Beimpfung der festen Medien mit einer bekannten Sporenmenge und Auszählen der zu Kolonien herangewachsenen Sporen einen zahlenmäßigen Vergleich zwischen dem optimalen Grundmedium und dem durch Zusätze oder pH-Wert-Erniedrigungen veränderten Grundmedium und zwischen den Wirkungen der Einzelfaktoren, Zweifach- und Dreifachkombinationen ziehen und Unterschiede statistisch absichern zu können. Ferner war es bei dieser Versuchsmethodik möglich, zwischen dem Beginn einer signifikanten Wachstumshemmung und dem Erreichen einer vollständigen Wachstumshemmung zu unterscheiden, während bei Verwendung flüssiger Medien nur vollständige Wachstumshemmungen annähernd genau festgestellt werden können. Aus der Beobachtung, daß bei starken Hemmwirkungen der Komponenten die wenigen, vermehrungsfähigen Sporen häufig zu weit größeren Kolonien auswuchsen als die auf die Kontrollplatten verbrachten Sporen, kann gefolgert werden, daß in diesen Fällen bei Verwendung flüssiger Nährmedien kein oder nur ein schwacher Unterschied in dem Trübungsgrad festzustellen gewesen wäre.

Von Nachteil ist sicherlich, daß bei der angewandten Versuchsmethodik nur mit einer geringen Sporenzahl gearbeitet werden konnte, da - wie sich in Vorversuchen zeigte - bei Verwendung

höherer Sporenmengen Überwuchern der Nährmedien oder Riesenkoloniebildung wegen der Beweglichkeit der verwendeten Teststämme unvermeidbar waren - Gründe, aus denen einige Autoren flüssige Nährmedien den festen vorgezogen haben. Die geringe Sporenzahl war deshalb nachteilig, weil sich in den durchgeführten Versuchen eine stufenmäßige Abnahme der Zahl auskeimungs- und vermehrungsfähiger Sporen bei Zusatz von zunehmenden Salzkonzentrationen zum Nährmedium oder Einstellung von abnehmenden pH-Werten zeigte, so daß vermutet werden kann, daß umso mehr Keime ungünstige Bedingungen überstehen werden, je mehr ursprünglich vorhanden waren.

Weiterhin ist bei der angewandten Versuchsmethodik die relativ kurze Bebrütungszeit von 3 Tagen als nachteilig anzusehen, da die Sporen der Teststämme sicherlich nicht in jedem Fall, in dem eine Wachstums hemmung vorlag, abgetötet waren, sondern nur eine verlängerte Lag-Phase aufwiesen und bei längerer Bebrütungszeit in der Lage gewesen wären, zu Kolonien auszuwachsen. Andererseits treten aber bei längeren Bebrütungszeiten unkontrollierbare Veränderungen besonders der festen Nährmedien auf. Es kommt z.B. durch Austrocknen der Nährmedien indirekt zu einer Konzentrationserhöhung der zugesetzten Salze und damit verbunden zu einer Erniedrigung der Wasseraktivität, so daß es schwierig wird, Rückschlüsse auf die Wirksamkeit der verwendeten Zusätze oder pH-Wert-Änderungen zu ziehen. Da aber andererseits - wie in Vorversuchen untersucht worden war - die Zeit von 3 Tagen ausreichte, um unter optimalen Bedingungen sämtliche keim- und vermehrungsfähigen Sporen zu Kolonien heranwachsen zu lassen (im Allgemeinen war schon nach 24 Stunden langer Bebrütung keine Koloniezahlnahme mehr festzustellen) und da es bei den durchgeführten Versuchen vor allem darum ging, Tendenzen in der Hemmwirkung der untersuchten Salze und pH-Wert-Bereiche festzustellen, wurde eine Bebrütungsdauer von nur drei Tagen als ausreichend angesehen.

Ferner wurde beabsichtigt, den Einfluss der untersuchten Faktoren auf das Wachstumsvermögen der Teststämme in einem sonst unver-

änderten, für die Teststämme optimalen Nährmedium zu untersuchen. Aus diesem Grunde wurde der pH-Wert des Mediums nur dann mit Milchsäure eingestellt, wenn bestimmte pH-Werte untersucht werden sollten, und sonst unverändert gelassen; die geringen Schwankungen (bei den Kontrollen zwischen pH 6,7 und 7,1) wurden in Kauf genommen. Außerdem konnte nur so ein Einfluß der getesteten Salze auf den pH-Wert des Mediums geprüft werden. Aus demselben Grunde wurden dem Nährmedium keine Puffersubstanzen zugesetzt, denn nach der Literaturübersicht zeigte sich, daß z.B. Phosphatpuffer selbst schon einen Einfluß auf das Wachstumsvermögen von Mikroorganismen ausübt.

Bei den Kombinationen von Salzen mit verschiedenen pH-Werten wurde zunächst der pH-Wert eingestellt und danach die Salze zugesetzt, um auch hier den Einfluß der Salzkombinationen auf den pH-Wert des Mediums zu prüfen.

Weiterhin war es bei dem großen arbeitstechnischen Aufwand der durchgeführten Versuche nicht möglich, mehr als einen Stamm pro Species zu prüfen. Um Rückschlüsse auf die Species insgesamt ziehen zu können, müßten weitere Versuche mit einer größeren Anzahl von Stämmen durchgeführt werden.

II.) Besprechung der Ergebnisse

Die Besprechung der Ergebnisse erfolgt in derselben Reihenfolge wie die Schilderung der Ergebnisse.

1.) pH-Werte

Die Versuche mit unterschiedlichen pH-Werten zeigten, daß pH-Werte im sauren Bereich das Wachstum der Teststämme unterschiedlich beeinflussten. So hatte ein pH-Wert von 6,6 keinen Einfluß auf das Wachstumsvermögen der drei *Bacillus*-Arten, dagegen zeigte sich bei einem pH von 6,2 bei allen drei Stämmen eine signifikante Wachstumshemmung. Verschiedene pH-Bereiche wurden jedoch benötigt, um das Wachstum vollständig zu hemmen. Hierbei waren der *Bac. cereus*-Stamm und *Bac. circulans*-Stamm empfindlicher gegenüber niedrigen pH-Werten als *Bac. subtilis*, der sich - wenn auch nur in geringem Maße - noch bei pH 4,6

vermehrten konnte. Dagegen wurde der *Bac. cereus*-Stamm vollständig und der *Bac. circulans*-Stamm fast vollständig (Koloniezahlreduktion um 99,8 %) bei pH 5,0 im Wachstum gehemmt.

Ein Vergleich mit den Angaben in der Literatur zeigte gute Übereinstimmung (siehe Tabelle 1). Die in den eigenen Untersuchungen festgestellte Wachstumsgrenze für *Bac. cereus* von pH 5,0 stimmt sehr gut mit den Angaben von LEVINE und FELLERS 1940a überein (pH 4,9). Dagegen fand SCHEIBNER 1967 erst bei pH 4,5 eine vollständige Wachstumshemmung. Zur Erreichung einer vollständigen Wachstumshemmung von *Bac. subtilis* wurden angegeben: pH 4,5 (SCHEIBNER 1967, BENGIS und SCHEIBNER 1969), weniger als pH 4,5 (INGRAM et al. 1956) und weniger als pH 4,6 (WILLIAMS 1929). Für *Bac. circulans* wurden in der zugänglichen Literatur keine Angaben gemacht.

Ein Vergleich der Hemmungen der drei Stämme durch verschiedene pH-Werte zeigt einen unterschiedlich starken Anstieg der prozentualen Koloniezahlreduktion. Der Anstieg war am stärksten bei dem *Bac. circulans*-, am schwächsten bei dem *Bac. subtilis*-Stamm.

2.) Kochsalz

Die Versuche mit unterschiedlichen Kochsalzkonzentrationen ergaben, daß Kochsalzzusätze zum Nährmedium in unterschiedlichem Ausmaß Einfluß auf das Wachstum der drei Teststämme ausübten. So hatte der Zusatz von 1 % Kochsalz keinen Einfluß auf das Wachstum der Teststämme. Dagegen bewirkten 2 % Kochsalz eine signifikante Wachstumshemmung des *Bac. cereus*-Stammes, 3 % des *Bac. circulans*-Stammes und 5 % des *Bac. subtilis*-Stammes. Auch zur vollständigen Wachstumshemmung wurden für die Teststämme unterschiedliche Kochsalzkonzentrationen benötigt: für *Bac. cereus* und *Bac. circulans* 7 % (wobei eine nahezu vollständige Koloniezahlreduktion schon mit 5 % erreicht wurden); für *Bac. subtilis* 10 %.

Ein Vergleich mit den Angaben in der Literatur über die Kochsalzkonzentrationen, die vollständige Wachstumshemmung von aeroben Sporenbildnern bewirkten (siehe Tabelle 2), ergab, daß für

Bac. cereus höhere Angaben gemacht wurden, als sich nach den eigenen Untersuchungen ergaben, und zwar bei mehr als 7 % und mehr als 16 % (HOROWITZ-WLASSOWA 1932, NIKODĚMUSZ 1962, KUNDRAT 1963, RIEMANN 1963, GOULD 1964, SCHEIBNER 1967). Auch die Angaben für *Bac. subtilis* liegen z.T. höher, so von KELCH 1961 und RIEMANN 1963 (mehr als 10 %), GOULD 1964 (10 bis 15 %), BENGIS und SCHEIBNER 1969 (12 %). Die Angaben von FISCHER 1900 (mehr als 9 %), liegen etwas niedriger. Noch niedrigere Kochsalzkonzentrationen zur Erreichung einer vollständigen Wachstums-
hemmung von *Bac. subtilis* benötigte dagegen LIPMAN 1909 (7,6 %). In Bergey's Manual (BREED et al. 1957) wird eine Kochsalzkonzentration von 7 % zur Wachstumsunterdrückung von *Bac. circulans* angegeben, diese Angabe stimmt mit den eigenen Versuchsergebnissen gut überein. KUNDRAT 1963 benötigte dagegen mehr als 7 % Kochsalz, um das Wachstum dieser Species vollständig verhindern zu können.

Es zeigte sich nach den durchgeführten Untersuchungen also eine unterschiedliche Empfindlichkeit der Teststämme gegenüber steigenden Kochsalzkonzentrationen im Nährmedium. Dabei erwies sich der *Bac. cereus*-Stamm als am empfindlichsten gegenüber Kochsalz, die prozentuale Koloniezahlreduktion stieg bei Erhöhung der Kochsalzkonzentration stark an. Ein etwas weniger starker Anstieg in der Reduktionsrate ergab sich bei dem *Bac. circulans*-Stamm. Wie gegenüber niedrigen pH-Werten erwies sich auch hier der *Bac. subtilis*-Stamm als der resistenteste der drei Teststämme. Erst ab einer Konzentration von 9 % Kochsalz zeigte sich ein steiler Anstieg in der prozentualen Koloniezahlreduktion.

3.) Natriumacetat

Die Versuche mit unterschiedlichen Natriumacetatkonzentrationen zeigten, daß Natriumacetatzusätze zum Nährmedium in unterschiedlichem Ausmaß das Wachstum der Teststämme beeinflussten. So bewirkte der Zusatz von 0,3 % Natriumacetat eine signifikante Wachstums-
hemmung des *Bac. cereus*-Stammes, während zur Erreichung dieses Effektes bei dem *Bac. subtilis*-Stamm 2 % und bei

dem *Bac. circulans*-Stamm 3 % benötigt wurden. Auch zur vollständigen Wachstumshemmung wurden für die Teststämme unterschiedliche Natriumacetatkonzentrationen benötigt, nämlich 2 % für den *Bac. cereus*-Stamm und 7 % für *Bac. subtilis* und den *Bac. circulans*-Stamm.

In der Literatur wurden keine vergleichbaren Angaben gefunden.

Es zeigte sich nach den durchgeführten Versuchen also eine unterschiedliche Empfindlichkeit der Teststämme gegenüber steigenden Natriumacetatkonzentrationen. Dabei erwies sich der *Bac. cereus*-Stamm weitaus empfindlicher gegenüber diesem Salz als die beiden anderen Teststämme. Während bei *Bac. cereus* die Koloniezahl bei steigenden Natriumacetatkonzentrationen stark reduziert wurde, war der Anstieg der prozentualen Reduktionsrate bei *Bac. subtilis* bis zu 6 % Natriumacetat nicht sehr stark. Dagegen war zwischen 6 % und 7 % Natriumacetat ein großer Anstieg in der Reduktionsrate festzustellen, sie stieg nämlich von 39,3 % auf 100 %. Dieser Unterschied bestand auch bei einer durchgeführten Wiederholung des Versuches.

Bei dem *Bac. circulans*-Stamm war eine plötzlich einsetzende Koloniezahlreduktion bei Erhöhung der Natriumacetatkonzentration von 2 % auf 3 % festzustellen, nämlich von 0 % auf 46,5 %. Erst danach nahm die Koloniezahlreduktion langsam zu.

Da vergleichbare Untersuchungen anderer Autoren fehlen und aus den eigenen Versuchen keine Rückschlüsse gezogen werden können, kann die Ursache der plötzlich einsetzenden, starken Reduktion bei zwei der drei Teststämme nicht geklärt werden.

4.) Natriumdiacetat

Die Versuche mit unterschiedlichen Natriumdiacetatkonzentrationen ergaben, daß Natriumdiacetat in weit geringeren Konzentrationen als Kochsalz und Natriumacetat das Wachstum der Teststämme nachteilig beeinflusste. So bewirkte schon der Zusatz von 0,03 % Natriumdiacetat zum Nährmedium eine signifikante Wachstumshemmung des *Bac. cereus*- und *Bac. circulans*-Stammes; ein Zusatz von 0,05 % des Salzes konnte den *Bac. subtilis*-

Stamm signifikant hemmen. Mit 0,10 % Natriumdiacetat konnte das Wachstum des *Bac. circulans*-Stammes vollständig unterdrückt werden, für den *Bac. cereus*- und *Bac. subtilis*-Stamm wurden hierfür 0,12 % Natriumdiacetat benötigt.

Vergleichbare Angaben in der Literatur liegen nicht vor, es wird lediglich über das Verhindern des Fadenziehens von Brot durch Zusatz von Natriumdiacetat berichtet. Die Konzentrationsangaben hierfür schwanken zwischen 0,06 % und 0,3 % (GLABE 1950, INGRAM et al. 1956, SOUCI und MERGENTHALER 1958).

Nach den durchgeführten Untersuchungen zeigte sich wiederum eine unterschiedliche Empfindlichkeit der Teststämme gegenüber den Veränderungen des Nährmediums. Dabei erwiesen sich der *Bac. subtilis*- und der *Bac. cereus*-Stamm leicht resistenter als der *Bac. circulans*-Stamm, der einen steileren Anstieg in der prozentualen Koloniezahlreduktion aufwies als die beiden anderen Stämme.

Um zu prüfen, ob die Hemmwirkung des Natriumdiacetates allein auf einer pH-Wert-Erniedrigung des Nährmediums beruhte oder ob, wie von GLABE 1950 und INGRAM et al. 1956 vermutet wurde, neben der pH-Wert-Erniedrigung noch spezifisch toxische Eigenschaften des Salzes hemmend auf das Wachstum von Mikroorganismen wirkten, wurde die prozentuale Koloniezahlreduktion bei den nach Zusatz des Salzes im Nährmedium vorliegenden pH-Werten mit derjenigen bei den annähernd gleichen, jedoch mit Milchsäure eingestellten pH-Werten (siehe Tabelle 4) verglichen und die Signifikanz der Unterschiede mit Hilfe des t-Tests geprüft (siehe Tabelle 13, in der die gleichen Abkürzungen wie in den Tabellen 4 - 12 benutzt wurden).

Tabelle 13: Vergleich der prozentualen Koloniezahlreduktion verursacht durch pH-Erniedrigung mit Milchsäure und mit Na-Diacetat

% Red.Milchsäure				%Red.Na-Diacetat				t - Test		
pH- Bac.	Bac.	Bac.	% Na-	Bac.	Bac.	Bac.	Bac.	Bac.	Bac.	
Wert	cereussubt.	circ.	Diacetat	cereussubt.	circ.	cereussubt.	circ.			
6,6	0	2,9	5,8	0,01	0	0	8,6	Ø	Ø	Ø
6,2	20,6	17,2	32,2	0,03	35,8	10,7	41,1	Ø	Ø	Ø
6,0	37,1	26,0	53,3	0,05	64,8	38,1	71,9	+	Ø	Ø
5,8	55,7	31,1	70,2	0,06	70,7	33,7	85,7	Ø	Ø	+
5,5	72,7	36,1	95,4	0,08	80,7	50,0	96,5	+	Ø	+
				0,10	97,1	85,8	100,0	+	+	+

Aus der Tabelle 13 ist ersichtlich, daß bei allen drei Teststämmen die Hemmwirkung von Na-Diacetat ab einer Konzentration von 0,01 % bei dem Bac. circulans-Stamm, von 0,03 % bei dem Bac. cereus-Stamm und von 0,05 % bei dem Bac. subtilis-Stamm im Vergleich zu den annähernd gleichen, jedoch mit Milchsäure eingestellten pH-Werten stärker war. Die verstärkte Hemmwirkung war signifikant bei Bac. cereus bei 0,05 % und ab 0,08 % Na-Diacetat (pH 6,0 und 5,5), bei Bac. subtilis ab 0,1 % Na-Diacetat (pH 5,5) und bei Bac. circulans ab 0,06 % Na-Diacetat (pH 5,8).

Ferner bewirkte Na-Diacetat bei Erreichung folgender pH-Werte im Nährmedium vollständige Wachstumshemmung von Bac. cereus: pH 5,32, Bac. subtilis: pH 5,32, Bac. circulans: pH 5,42. Dagegen bewirkten bei Einstellung mit Milchsäure erst folgende pH-Werte vollständige Wachstumshemmung von Bac. cereus: pH 5,0, Bac. subtilis: pH 4,2, Bac. circulans: pH 4,6.

Aus diesen Versuchen kann also geschlossen werden, daß Natriumdiacetat bei dem gleichen pH-Wert stärker wirksam ist als Milchsäure. Ferner kann in Übereinstimmung mit GLABE 1950 und INGRAM et al. 1956 vermutet werden, daß Natriumdiacetat neben einer pH-Wert-senkenden Wirkung spezifisch wachstumshemmende Eigenschaften besitzt.

5.) Kombinationen verschiedener Kochsalzkonzentrationen und pH-Werte

Kombinationen von Kochsalz mit niedrigen pH-Werten bewirkten Wachstumshemmung der Teststämme in unterschiedlichem Ausmaß. So führten steigende Kochsalzkonzentrationen bei sinkendem pH-Wert zu stärker werdenden Wachstumshemmungen der Teststämme. Bei einem Vergleich der Kombinationswirkungen mit den Hemmwirkungen der Einzelfaktoren fällt auf, daß die Wirkung der Kombinationen nur in zwei Fällen (2 % NaCl/pH 6,0 bei *Bac. circulans*, 5 % NaCl/pH 5,0 bei *Bac. subtilis*) signifikant stärker war als diejenige der Einzelkomponenten (siehe Tabellen 8 a, b, c). In der Mehrzahl der Versuche war keine signifikant stärkere Hemmwirkung der Kombinationen festzustellen. Dagegen zeigten die Kombinationen von 1 %, 2 % und 3 % Kochsalz mit pH 5,0 bei dem *Bac. subtilis*-Stamm eine signifikant geringere Hemmwirkung als die pH-Werte allein. Dieses Ergebnis stimmt mit der Ansicht von WINSLOW und HAYWOOD 1931, FABIAN und BRYAN 1933 und KOLLER 1941 überein, wonach Kochsalz in geringen Konzentrationen die Lebensfähigkeit von Mikroorganismen stimulieren soll (bei der Kochsalzeinzelwirkung erwies sich der *Bac. subtilis* als der resistenteste der Teststämme). Die Beobachtung von EDDY und INGRAM 1956, daß nämlich der Zusatz von Kochsalz in Konzentrationen bis zu 5 % die pH-Wachstumsgrenzen des von ihnen untersuchten Bazillus-Stammes erweiterte, konnte nach den eigenen Versuchen nicht bestätigt werden. Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen, daß nämlich in der Mehrzahl der durchgeführten Versuche keine signifikant stärkere Hemmwirkung auf die Teststämme durch Kombinationen von verschiedenen Kochsalzkonzentrationen mit niedrigen pH-Werten als mit den Einzelfaktoren - hier insbesondere dem niedrigen pH-Wert - allein bewirkt wurde und daß in einigen Versuchen die Hemmwirkung der Kombinationen sogar signifikant niedriger waren, stehen in Widerspruch zu einigen Literaturangaben. So sollen nach LERCHE 1956 und INGRAM und KITCHELL 1967 niedrige

pH-Werte die bakterizide Wirkung von Kochsalz erhöhen. Hierbei wurde jedoch nicht zahlenmäßig die Frage untersucht, inwieweit die niedrigen pH-Werte allein schon bakterizid oder - wie in den eigenen Versuchen untersucht - bakteriostatisch wirkten. Aus den eigenen Versuchen kann auch nicht auf eine "synergistische Wirkung von Salz und pH" (INGRAM und KITCHELL 1967) geschlossen werden, da die Kombinationswirkung in der Mehrzahl der eigenen Versuche nicht signifikant größer war als die jeweils am stärksten wirksame Einzelkomponente. Die Untersuchungsergebnisse von WALZ 1957, BARTH 1960 und BENGS und SCHEIBNER 1969 lassen sich nicht mit den eigenen Ergebnissen vergleichen, da die Autoren mit flüssigen Nährmedien (WALZ 1957, BENGS und SCHEIBNER 1969) gearbeitet hatten und deshalb keine zahlenmäßigen Aussagen machen konnten oder weil nur der bakterizide Effekt (BARTH 1960) untersucht wurde.

Bei einem Vergleich der Resistenz der drei untersuchten Teststämme gegenüber Kombinationen von Kochsalz und niedrigen pH-Werten zeigte sich wiederum, daß der *Bac. subtilis*-Stamm - wie nach den Ergebnissen der Einzelfaktorenwirkung zu erwarten war - widerstandsfähiger war als die beiden anderen Stämme. Der *Bac. cereus*-Stamm erwies sich als geringgradig resistenter gegenüber den Nährmediumveränderungen als der *Bac. circulans*-Stamm.

6.) Kombination verschiedener Kochsalz- und Natriumacetatkonzentrationen

Kombinationen von Kochsalz mit Natriumacetat bewirkten bei steigenden Konzentrationen beider Salze stärker werdende Wachstumshemmungen der drei Teststämme. Bei einem Vergleich der Kombinationswirkung mit den Hemmwirkungen der Einzelfaktoren zeigte sich - vor allem bei Kombinationen von höheren Konzentrationen - eine signifikant stärkere Hemmwirkung der Kombinationen gegenüber der am stärksten wirksamen Einzelkomponente. Zur Erreichung einer vollständigen Wachstumshemmung wurden geringere Salzkonzentrationen bei den Kombinationen benötigt als zur

Erreichung desselben Effektes mit den Einzelfaktoren. Dies war, besonders deutlich bei dem *Bac. subtilis*-Stamm, bei dem z.B. die Kombination 3 % NaCl/6 % Na-Acetat und 5 % NaCl/4 % Na-Acetat das Wachstum vollständig hemmte, während bei der Einzelwirkung 10 % NaCl und 7 % Natriumacetat benötigt wurden;

Vergleichbare Untersuchungen wurden in der mir zugänglichen Literatur nicht aufgefunden.

Die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen scheinen die Ansicht von KOLLER 1941 zu bestätigen, wonach die Wirkung von Salzmischungen durch die Summe der Einzelpotenzen bestimmt sein soll. WINSLOW und HAYWOOD 1931 sind dagegen der Meinung, daß sich zwar einige, jedoch nicht alle der Phänomene des Salzantagonismus mit einer einfachen Addition der Einzelwirksamkeiten erklären lassen.

Bei einem Vergleich der Resistenz der drei Teststämme gegenüber Kombinationen von Kochsalz und Natriumacetat zeigte sich wiederum, daß der *Bac. subtilis*-Stamm den Umweltveränderungen gegenüber am widerstandsfähigsten war. Weitaus am wenigsten widerstandsfähig war in dieser Versuchsreihe der *Bac. cereus*-Stamm, der schon durch die Kombination von 1 % Kochsalz mit 0,3 % Na-Acetat signifikant in seinem Wachstum gehemmt wurde. Auch diese Ergebnisse konnten nach einem Vergleich der Hemmwirkungen der Einzelfaktoren bei den drei Teststämmen erwartet werden.

7.) Kombinationen verschiedener Kochsalz- und Natriumdiacetatkonzentrationen

Auch Kombinationen von Kochsalz und Natriumdiacetat bewirkten bei steigenden Konzentrationen stärker werdende Wachstumshemmung der Teststämme.

Die Unterschiede zwischen den durch Einzelwirkung und den durch Kombinationswirkung hervorgerufenen Wachstumshemmungen waren in vielen Fällen nicht signifikant, bei einem Versuch (1 % NaCl/

0,06 % Na-Diacetat bei *Bac. subtilis*) waren die Kombinationen sogar signifikant geringer wirksam als das Natriumdiacetat allein; hier kann wieder von einem stimulierenden Effekt einer niedrigen Kochsalzkonzentration (WINSLOW und HAYWOOD 1931, FABIAN und BRYAN 1933, KOLLER 1941) gesprochen werden. Erst in höheren Konzentrationen (ab 1 % NaCl/0,08 % Na-Diacetat, 3 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat bei *Bac. cereus*; ab 1 % NaCl/0,08 % Na-Diacetat, 3 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat bei *Bac. subtilis* und ab 2 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat bei *Bac. circulans*) war die Kombinationswirkung signifikant stärker als die Na-Diacetat-Einzelwirkung.

Zur Erreichung einer vollständigen Wachstumshemmung waren bei den Kombinationen geringere Salzkonzentrationen notwendig als bei den Salzeinzelwirkungen. Dies galt bei allen drei Teststämmen.

Vergleichbare Untersuchungen wurden in der mir zugänglichen Literatur nicht aufgefunden.

Bei einem Vergleich der Resistenz der drei Teststämmen gegenüber Kombinationen von Kochsalz und Natriumdiacetat erwies sich wiederum der *Bac. subtilis*-Stamm als der widerstandsfähigste. In dieser Versuchsreihe war auch der *Bac. circulans*-Stamm empfindlicher als der *Bac. cereus*-Stamm. Auch diese Ergebnisse konnten nach einem Vergleich der Hemmwirkungen der Einzelfaktoren bei den drei Teststämmen erwartet werden.

Um ebenso wie bei der Na-Diacetat-Einzelwirkung zu prüfen, ob die Hemmwirkung der NaCl/Na-Diacetat-Kombinationen allein auf der pH-Wert-Erniedrigung des Nährmediums beruhte oder ob sich auch hier spezifisch toxische Einflüsse auf das Wachstum der Teststämmen bemerkbar machten, wurde die Hemmwirkung bei den tatsächlich im Nährmedium vorliegenden pH-Werten mit derjenigen bei mit Milchsäure eingestellten pH-Werten verglichen (Tabelle 14).

Tabelle 14: Vergleich der prozentualen Koloniezahlreduktion verursacht durch pH-Erniedrigung mit Milchsäure und Kochsalz/Na-Diacetat-Kombinationen.

%Red.Milchsäure				% Red. NaCl/Diacetat				t-Test		
pH-	Bac.	Bac.	Bac.	% Na-	Bac.	Bac.	Bac.	Bac.	Bac.	Bac.
Wert	cereussub.	bt.circ.	Diacetat	cereussub.	bt.circ.	cereussub.	bt.circ.	cereussub.	bt.circ.	circ.
5,5	72,7	36,1	95,4	1/0,06	63,1	17,1	85,7	Ø	Ø	Ø
				2/0,06	85,6	37,8	99,8	Ø	Ø	+
				3/0,06	98,5	49,7	100,0	+	Ø	+
5,2	99,8	74,8	97,5	1/0,08	98,5	31,1	100,0	Ø	+	Ø
				2/0,08	100,0	45,6	100,0		+	Ø
				3/0,08	100,0	64,4	100,0		+	
5,0	100,0	85,3	99,8	1/0,1	100,0	77,3	100,0		Ø	
				2/0,1	100,0	75,1	100,0		Ø	
				3/0,1	100,0	83,4	100,0		Ø	
				5/0,1	100,0	100,0	100,0		+	

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß bei der Kombination 2 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat bei dem Bac. circulans-Stamm und bei der Kombination 3 % NaCl/0,06 % Na-Diacetat bei dem Bac. cereus- und dem Bac. circulans-Stamm eine signifikant stärkere Hemmwirkung vorlag als bei Erniedrigung des pH-Wertes auf denselben Wert mit Milchsäure. Bei dem Bac. subtilis-Stamm war dagegen durch die Kombinationen von 1 %, 2 % und 3 % NaCl mit 0,08 % Na-Diacetat eine signifikant niedrigere Hemmwirkung zu erreichen als bei dem mit Milchsäure eingestellten, gleichen pH-Wert von 5,2. Vermutlich machte sich hier wieder die wachstumsstimulierende Wirkung von niedrigen Kochsalzkonzentrationen (bei der Einzelwirkung erwies sich dieser Stamm als der resistenteste gegenüber Kochsalz) bemerkbar. Bei diesem Stamm bewirkte nur die Kombination von 5 % Kochsalz mit 0,1 % Na-Diacetat eine signifikant stärkere Wachstumshemmung (hier lag sogar eine vollständige Wachstumshemmung vor) als der entsprechende, mit Milchsäure eingestellte pH-Wert.

8.) Kombinationen verschiedener Kochsalz- und Natriumacetat-
konzentrationen mit pH-Werten von 5,5 und 6,0

Wie bei den Kochsalz/Natriumacetat-Kombinationen bewirkten auch bei dieser Versuchsreihe, wobei die Nährmedien vor der Salzzugabe auf pH 5,5 und 6,0 eingestellt worden waren, steigende Salzkonzentrationen stärker werdende Wachstumshemmungen der Teststämme. Durch den Acetatzusatz wurde jedoch der pH-Wert der Nährmedien zur alkalischen Seite hin verschoben, so daß die pH-Wert-Erniedrigung nicht voll wirksam werden konnte. Während die Dreifachkombinationen bei dem Bac. subtilis-Stamm überwiegend signifikant stärkere Wachstumshemmungen als die Einzelfaktoren und Zweifachkombinationen hervorriefen, waren die Dreifachkombinationen bei dem Bac. circulans- und Bac. cereus-Stamm zwar teilweise den Salzeinzelwirkungen signifikant überlegen, jedoch nicht der Mehrzahl der Zweifachkombinationen; hier war im Gegenteil die Dreifachkombination in Einzelfällen sogar signifikant weniger wirksam als die Salzkombinationen bei nicht eingestelltem pH. Bei beiden Stämmen konnten die Dreifachkombinationen erst bei den Salzkonzentrationen vollständige Wachstumshemmung bewirken, bei denen auch schon ohne pH-Wert-Einstellung das Wachstum vollständig unterdrückt wurde. Dazu im Gegensatz stand der Bac. subtilis-Stamm, bei dem bei Einstellung des Nährmediums vor dem Salzzusatz auf pH 5,5 geringere Salzkonzentrationen als in Einzel- oder Zweifachwirkung vollständige Wachstumshemmung hervorriefen. Die vollständige Wachstumshemmung bei der Kombination pH 6,0/2 % NaCl/4 % Na-Acetat muß als Ausreißer angesehen werden, da bei der Kombination mit 3 % NaCl nur eine Koloniezahlreduktion um 86,8 % und mit 5 % um 99,5 % erzielt werden konnte. Worauf die unterschiedliche Wirkung der Dreifachkombinationen auf die Teststämme beruht, kann aus den durchgeführten Versuchen nicht erklärt werden.

Obwohl der Bac. subtilis-Stamm am deutlichsten gegenüber den Einzelkomponenten und Zweifachkombinationen durch die Dreifachkombinationen beeinflusst wurde, erwies er sich wiederum als der

resistente der drei Teststämme. Wie nach den Versuchen mit Na-Acetat allein oder in Kombination mit Kochsalz erwartet werden konnte, war der *Bac. cereus*-Stamm der empfindlichste der drei Teststämme.

9.) Kombinationen verschiedener Kochsalz- und Natriumdiacetatkonzentrationen mit pH-Werten von 5,5 und 6,0

Wie bei den Kochsalz/Natriumdiacetat-Kombinationen bewirkten auch bei dieser Versuchsreihe, wobei das Nährmedium vor dem Salzzusatz auf pH 5,5 und 6,0 eingestellt worden war, steigende Salzkonzentrationen stärker werdende Wachstumshemmungen der Teststämme.

In der überwiegenden Mehrzahl der Versuche waren die Dreifachkombinationen signifikant stärker wirksam als die am stärksten wirksame Einzelkomponente (Natriumdiacetat) und die Salzkombinationen. Zur Erreichung einer vollständigen Wachstumshemmung waren bei den Dreifachkombinationen bei allen drei Teststämmen geringere Salzkonzentrationen notwendig, als bei den Salzeinzelwirkungen und Zweifachkombinationen.

Auch bei dieser Versuchsreihe erwies sich der *Bac. subtilis*-Stamm als der resistanteste der drei Teststämme. Wie nach den Versuchen mit Na-Diacetat als Einzelkomponente und in Kombination mit Kochsalz erwartet werden konnte, war der *Bac. cereus*-Stamm dem *Bac. circulans*-Stamm hinsichtlich der Resistenz gegenüber den untersuchten Dreifachkombinationen geringfügig überlegen.

Um auch hier zu prüfen, ob die Hemmwirkung der Dreifachkombinationen allein auf der pH-Wert-Erniedrigung des Nährmediums beruhte oder ob daneben noch eine spezifisch wachstumshemmende Wirkung bestand, wurde die prozentuale Koloniezahlreduktion bei den nach Zusatz der Salze im Nährmedium vorliegenden pH-Werten mit der Koloniezahlreduktion bei den annähernd gleichen, jedoch mit Milchsäure eingestellten pH-Werten verglichen und

die Signifikanz der Unterschiede mit Hilfe des t-Tests geprüft.
(Tabelle 15).

Tabelle 15: Vergleich der prozentualen Koloniezahlreduktion verursacht durch pH-Wert-Erniedrigung mit Milchsäure und mit Zusatz von Kochsalz und Natriumdiacetat zu Nährmedien, deren pH-Wert vor dem Salzzusatz auf pH 5,5 und 6,0 eingestellt worden war.

pH-Wert	%Red. Milchsäure			%Red. NaCl/Diacetat			t-Test	
	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	% NaCl	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans	
5,2	99,8	74,8	97,5	1/0,06	99,9	33,0	100,0	Ø + Ø
				1/0,08	100,0	52,0	100,0	Ø +
				2/0,06	99,7	39,7	100,0	Ø +
5,0	100,0	85,3	99,8	1/0,06	100,0	71,5	100,0	+
				1/0,08	100,0	99,4	100,0	+
				2/0,06	100,0	70,4	100,0	+
				2/0,08	100,0	80,4	100,0	Ø
				3/0,08	100,0	99,7	100,0	+
				5/0,06	100,0	100,0	100,0	+
				5/0,08	100,0	100,0	100,0	+
4,6	100,0	98,3	100,0	05/0,06	100,0	100,0	100,0	Ø

Aus der Tabelle 15 ist ersichtlich, daß bei dem Bac. cereus- und dem Bac. circulans-Stamm kein wesentlicher Unterschied in der Hemmwirkung zwischen der reinen pH-Wirkung und der Dreifachkombination besteht. Beide Stämme wurden bei pH 5,2 fast vollständig in ihrem Wachstum gehemmt. Dagegen waren bei dem Bac. subtilis-Stamm signifikante Unterschiede festzustellen, wobei erst ab der Kombination mit 3 % und 5 % Kochsalz eine signifikant verstärkte Wachstumshemmung gegenüber der reinen pH-Wirkung sichtbar wurde. Die Kombinationen mit 1 und 2 % Kochsalz (Ausnahme 1 % NaCl/0,08 % Na-Diacetat) waren dagegen signifikant geringer wirksam als die mit Hilfe von Milchsäure

eingestellten vergleichbaren pH-Werte. Möglicherweise kommt hierbei auch wieder dem Kochsalz in geringen Konzentrationen eine wachstumsstimulierende Wirkung zu.

III.) Zusammenfassende Besprechung der Ergebnisse

Bei den durchgeführten Untersuchungen zeigte sich, daß steigende Salzkonzentrationen und sinkende pH-Werte eine zunehmende Wachstumshemmung bis hin zur vollständigen Wachstumshemmung der drei Teststämme bewirkten. Dabei erwies sich in allen Versuchen der Bac. subtilis-Stamm als der resistanteste.

In Übersichtstabellen sind die zur Erreichung einer signifikanten Wachstumshemmung, einer mehr als 90 %igen Koloniezahlreduktion und einer vollständigen Unterdrückung des Wachstums benötigten Salzkonzentrationen bzw. pH-Werte in Einzelwirkung und Kombination für die drei Teststämme zusammengestellt (Tabelle 16, 17, 18).

Aus diesen Tabellen ist ersichtlich, daß zwischen den Salzkonzentrationen und pH-Werten, die eine signifikante Wachstumshemmung der Teststämme bewirkten, und denjenigen, mit denen vollständige Wachstumsunterdrückung erzielt werden konnten, beträchtliche Unterschiede bestanden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß zur vollständigen Wachstumshemmung der Sporen aller drei Teststämme folgende Salzkonzentrationen und pH-Werte benötigt wurden, die praktisch den Werten für den resistantesten Stamm (Bac. subtilis) entsprechen:

1.) Einzelwirkung

pH	4,2
Kochsalz	10,0 %
Natriumacetat	7,0 %
Natriumdiacetat	0,12 %

2.) Zweifachkombinationen

Kochsalz/pH

1 %/4,5

5 %/5,0

Kochsalz/Natriumacetat

1 %/8,0 %

3 %/6,0 %

5 %/4,0 %

Kochsalz/Natriumdiacetat

5 %/0,1 %

3.) Dreifachkombinationen

Kochsalz/Natriumacetat/pH

5 %/2 %/5,5

Kochsalz/Natriumdiacetat/pH

2 %/0,08 %/5,5

3 %/0,06 %/5,5

3 %/0,08 %/6,0

5 %/0,06 %/6,0.

Tabelle 16: Zusammenstellung der Salzkonzentrationen bzw. pH-Werte in Einzelwirkung und Kombination, die eine signifikante Wachstums hemmung der drei Teststä mme bewirkten.

Nährmediumver- änderung durch:	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans
pH-Wert	6,2	6,2	6,2
NaCl	2,0 %	7,0 %	3,0 %
Na-Acetat	0,3 %	2,0 %	3,0 %
Na-Diacetat	0,03 %	0,05 %	0,03 %
NaCl/pH	1%/6,0	1%/5,5	1%/6,0
NaCl/Na-Acetat	1%/0,3%	1%/2%	1%/2%
NaCl/Na-Diacetat	1%/0,06%	1%/0,06%	1%/0,06%
NaCl/Na-Acetat/pH	1%/0,5%/6,0	1%/2%/6,0 1%/0,5%/5,5	1%/1%/5,5 1%/2%/6,0
NaCl/Na-Diacetat/pH	1%/0,06%/6,0	1%/0,06%/6,0	1%/0,06%/6,0

Tabelle 17: Zusammenstellung der Salzkonzentrationen bzw. pH-Werte in Einzelwirkung und Kombination, die eine mehr als 90 %ige Koloniezahlreduktion bei den drei Teststämmen bewirkten.

Nährmediumver- änderung durch:	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans
pH-Wert	5,2	4,6	5,5
NaCl	5,0 %	10,0 %	5,0 %
Na-Acetat	2,0 %	7,0 %	7,0 %
Na-Diacetat	0,1 %	0,12 %	0,07 %
NaCl/pH	1%/5,0 5%/6,0	3%/4,5 5%/5,0	1%/5,0 3%/6,0
NaCl/Na-Acetat	1%/2% 2%/0,5% 3%/0,3%	1%/8% 3%/6% 5%/4%	1%/6% 2%/4% 3%/2%
NaCl/Na-Diacetat	1%/0,08% 3%/0,06%	5%/0,08%	1%/0,08%
NaCl/Na-Acetat/pH	1%/2%/6,0 2%/1%/6,0 3%/0,5%/6,0	5%/2%/5,5 5%/3%/6,0	2%/4%/6,0 3%/1%/6,0
NaCl/Na-Diacetat/pH	1%/0,06%/6,0	1%/0,08%/5,5 3%/0,06%/6,0	1%/0,06%/6,0

Tabelle 18: Zusammenstellung der Salzkonzentrationen bzw. pH-Werte in Einzelwirkung und Kombination, die vollständige Wachstumshemmung der drei Teststämme bewirkten.

Nährmediumver- änderung durch:	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans
pH-Wert	5,0	4,2	4,6
NaCl	7,0 %	10,0 %	7,0 %
Na-Acetat	2,0 %	7,0 %	7,0 %
Na-Diacetat	0,12 %	0,12 %	0,1 %
NaCl/pH	1%/5,0 5%/6,0	1%/4,5 5%/5,0	1%/5,0 5%/6,0
NaCl/Na-Acetat	1%/2%	1%/8% 3%/6% 5%/4%	1%/6% 5%/2%
NaCl/Na-Diacetat	1%/0,1% 2%/0,08% 5%/0,06%	5%/0,1%	1%/0,1% 2%/0,06%
NaCl/Na-Acetat/pH	1%/2%/5,5 3%/1%/6,0	5%/2%/5,5	2%/4%/6,0 3%/3%/5,5 5%/1%/6,0
NaCl/Na-Diacetat/pH	1%/0,06%/5,5 1%/0,08%/6,0	2%/0,08%/5,5 3%/0,06%/5,5 3%/0,08%/6,0 5%/0,06%/6,0	1%/0,06%/6,0

IV.) Auswertung der Ergebnisse unter fleischtechnologischen und fleischhygienischen Gesichtspunkten

Nachfolgend werden die praktischen Auswirkungen der nach den eigenen Untersuchungen sich als wirksam erwiesenen Salzkonzentrationen und pH-Bereiche in Einzel- und Kombinationswirkung unter Berücksichtigung der in Fleischerzeugnissen vorliegenden Bedingungen und den nach den Rechtsverordnungen erlaubten Zusätzen und deren Konzentrationen besprochen. Generell ist einschränkend zu sagen, daß sich die aus den Versuchen erzielten Ergebnisse wegen der Unterschiede in der Zusammensetzung der künstlichen Nährmedien und der Fleischerzeugnisse, insbesondere auch wegen der unterschiedlichen Pufferwirkungen der Substrate, vor weiteren erforderlichen Untersuchungen nur sehr bedingt auf Fleischerzeugnisse übertragen lassen.

1.) pH-Werte

Bei den verschiedenen Fleischerzeugnissen sind folgende pH-Werte zu erwarten, deren Unterschiedlichkeit technologisch bedingt ist.

Rohwurst frisch	pH 6,0 bis 5,8
lufttrocken	EndpH 5,6 bis 5,8
geräuchert	EndpH 5,4 bis 5,2 (bis 4,8)
Brühwurst	pH 6,0 bis 6,2
Kochwurst	
Leberwurst	pH 6,2 bis 6,4
Blutwurst	pH 6,4 bis 6,6
Fleischkonserven	pH 6,0 bis 6,2
Kochschinken	pH 6,0 bis 6,2
Sülzen	pH etwa 4,5
Pökellake (Aufguß)	pH etwa 6,5

Ein Vergleich der bei den verschiedenen Fleischerzeugnissen zu erwartenden pH-Werte mit den sich in den Versuchen als wirksam erwiesenen pH-Werten zeigt, daß alle Fleischerzeugnisse - ausgenommen Kochwurst - in pH-Bereichen liegen, in denen sich

nach den Versuchen signifikante Wachstumshemmungen der Teststämme bemerkbar machten. Nur der pH-Wert der Sülzen liegt in dem Bereich, in dem das Wachstum der Teststämme vollständig unterdrückt wurde. Die pH-Werte der geräucherten Rohwürste liegen in dem Bereich, in dem das Wachstumsvermögen von zwei der drei Teststämme (*Bac. cereus* und *Bac. circulans*) zu mehr als 90 % unterdrückt wurde.

Theoretisch kann eine vollständige Wachstumshemmung aerober Sporenbildner durch pH-Wert-Senkung erzielt werden. Einschränkend ist zu sagen, daß nach praktischen Erfahrungen bei Koch- und Brühwürsten mit pH-Werten unter 6,0 - bei sonst nicht zu beanstandender Beschaffenheit - abfallender Geschmack festzustellen ist.

2.) Kochsalz

Bei den verschiedenen Fleischerzeugnissen sind folgende Kochsalzkonzentrationen rezepturmäßig zu erwarten:

Rohwurst	etwa 3 %	je nach Austrocknungsgrad steigend bis etwa 5 %
Brühwurst	etwa 2 %	
Kochwurst	2 bis 3 %	
Kochschinken	etwa 2 %	
Pökellake (Aufguß)	14 bis 22 %	

Ein Vergleich der bei den verschiedenen Fleischerzeugnissen vorliegenden Kochsalzkonzentrationen mit den sich in den Versuchen als wirksam erwiesenen Konzentrationen zeigt, daß die Kochsalzkonzentrationen der Fleischerzeugnisse in einem Bereich liegen, in dem sich bereits eine signifikante Wachstumshemmung von zwei der drei Teststämme (*Bac. cereus* und *Bac. circulans*) abzeichnete; diese beiden Stämme wurden durch die in ausgereiften Rohwürsten vorliegenden Kochsalzkonzentrationen von 5 % fast vollständig (zu mehr als 90 %) in ihrem Wachstumsvermögen gehemmt. Vollständige Wachstumshemmung aller drei Teststämme

ist nach den durchgeführten Untersuchungen mit den in Fleischerzeugnissen vorliegenden Kochsalzkonzentrationen nicht zu erwarten. Lediglich die in Pökeliaken vorkommenden Kochsalzkonzentrationen sind danach in der Lage, das Wachstum der Teststämme vollständig zu unterdrücken.

Eine Erhöhung der Kochsalzkonzentration in den genannten Fleischerzeugnissen schließt sich durch nachteilige Geschmackseinflussung aus.

3.) Natriumacetat

Nach den Vorschriften der Fleischverordnung sind Natriumsalze der Essigsäure erlaubt als Kutterhilfsmittel bei der Herstellung von Brühwürsten aus nicht schlachtwarmem Fleisch in einer Menge von nicht mehr als 0,3 % bezogen auf die verwendete Fleisch- und Fettmenge. In den durchgeführten Untersuchungen bewirkten 0,3 % Natriumacetat eine signifikante Wachstumshemmung des *Bac. cereus*-Stammes, jedoch konnten erst 2 % bzw. 3 % Natriumacetat das Wachstum des *Bac. subtilis*- und *Bac. circulans*-Stammes signifikant beeinflussen. Um alle drei Teststämme vollständig im Wachstum zu hemmen, waren sogar 7 % Natriumacetat im Nährmedium notwendig. Aus diesen Untersuchungen kann geschlossen werden, daß der nach der Fleischverordnung zugelassenen Menge von 0,3 % Natriumacetat in Fleischerzeugnissen kein deutlicher Einfluß auf das Wachstumsvermögen aerober Sporenbildner zukommt.

4.) Natriumdiacetat

Als "Natrium Salz der Essigsäure" ist auch Natriumdiacetat nach den Vorschriften der Fleischverordnung als Kutterhilfsmittel in einer Konzentration bis zu 0,3 % zugelassen. In den durchgeführten Untersuchungen zeigten schon 0,03 % und 0,05 % Natriumdiacetat einen signifikanten Einfluß auf das Wachstumsvermögen der Teststämme. Bei einer Konzentration von 0,12 % Natriumdiacetat im Nährmedium konnte keiner der drei Teststämme mehr wachsen. Es ist also von Diacetat in Brühwürsten eine wachstumshemmende Wirkung auf Keime der Gattung *Bacillus* zu erwarten. Da eine Komponente bei der

Natriumdiacetatwirkung in der pH-Wert-Senkung liegt, muß jedoch damit gerechnet werden, daß zumindest ein Teil der Diacetatwirkung durch evtl. Pufferwirkungen in Fleischerzeugnissen aufgehoben wird.

5.) Kombination Kochsalz/pH

Bei den verschiedenen Fleischerzeugnissen liegen nach dem oben Gesagten folgende Kochsalzkonzentrationen und pH-Werte vor:

	Kochsalz %	/	pH-Werte
Rohwurst frisch	etwa 3		5,8 bis 6,0
lufttrocken	3 bis 5		5,6 bis 5,8
geräuchert	3 bis 5		4,8 bis 5,4
Brühwurst	etwa 2		6,0 bis 6,2
Leberwurst	2 bis 3		6,2 bis 6,4
Blutwurst	2 bis 3		6,4 bis 6,6
Kochschinken	etwa 2		6,0 bis 6,2
Pökellake (Aufguß)	14 bis 22		etwa 6,5

Nach den durchgeführten Untersuchungen bewirkten 1 % Kochsalz und pH 6,0 (*Bac. cereus* und *Bac. circulans*) bzw. 5,5 (*Bac. subtilis*) schon eine signifikante Wachstums hemmung, das Wachstum aller drei Teststämme konnte mit den Kombinationen 1 % NaCl/pH 4,5 und 5 % NaCl/pH 5,0 vollständig unterdrückt werden. In geräucherten Rohwürsten können die letztgenannten Verhältnisse vorliegen. Zwei der drei Versuchsstämme (*Bac. cereus* und *Bac. circulans*) wurden bei 5 % Kochsalz und einem pH-Wert von 6,0 vollständig gehemmt, so daß bei Rohwürsten mit 5 % Kochsalz auch bei einem pH-Wert über 5,0 mit einer vollständigen Wachstums hemmung zumindest einiger *Bacillus*-Arten gerechnet werden kann. Dafür spricht auch die Erfahrung, daß bei ausgereiften Rohwürsten die Keimflora überwiegend aus Laktobazillen besteht und aerobe Sporenbildner, wenn überhaupt, nur in geringer Menge nachweisbar sind.

Bei den Pökellaken ist schon allein die Kochsalzkonzentration

in der Lage, das Wachstum der Teststämme vollständig zu unterdrücken.

Bei den übrigen Fleischerzeugnissen ist zwar mit einer nachteiligen Beeinflussung der Wachstumsfähigkeit zu rechnen, die nach den Versuchsergebnissen jedoch nicht für eine vollständige Wachstumshemmung ausreichen dürfte. Dafür spricht auch, daß in Kochwürsten und Brühwürsten fast regelmäßig aerobe Sporenbildner nachgewiesen werden können.

6.) Kombination Kochsalz/Natriumacetat

Nach der Fleischverordnung sind Natriumsalze der Essigsäure als Kutterhilfsmittel in einer Konzentration von 0,3 % zugelassen. Die Natriumacetatkonzentration von 0,3 % und deren Kombinationen mit 1,2 und 3 % Kochsalz wurde nur bei dem *Bac. cereus*-Stamm, der sich als empfindlichster der drei Teststämme gegenüber Natriumacetat erwiesen hatte, geprüft. Das Wachstum dieses Stammes konnte durch diese Kombinationen zwar deutlich, nicht jedoch vollständig gehemmt werden. Zur Erreichung einer signifikanten und vor allem vollständigen Wachstumshemmung wurden bei den beiden anderen Stämmen (*Bac. subtilis* und *Bac. circulans*) weit höhere Konzentrationen benötigt. Kombinationen von Kochsalz und Natriumacetat werden in Fleischerzeugnissen erst in wesentlich höheren als in der Verordnung zugelassenen und vermutlich auch geschmacklich vertretbaren Konzentrationen vollständige oder zumindest bemerkbare Wachstumshemmung von aeroben Sporenbildnern bewirken.

7.) Kombination Kochsalz/Natriumdiacetat

Wie unter Punkt 4.) besprochen, ist Natriumdiacetat als Kutterhilfsmittel bis zu einer Konzentration von 0,3 % nach der Fleischverordnung zugelassen. Aus den Untersuchungsergebnissen war ersichtlich, daß bei Kombination mit 1, 2, 3 und 5 % Kochsalz niedrigere Natriumdiacetatkonzentrationen zur Erreichung vollständiger Wachstumshemmung der Teststämme benötigt wurden als bei der Natriumdiacetateinzelwirkung. Es ist also von Kochsalz/Natriumdiacetatkombinationen in Brühwürsten eine wachs-

tumshemmende Wirkung auf Keime der Gattung *Bacillus* zu erwarten.

8.) Kombination Kochsalz/Natriumacetat/pH 5,5 und 6,0

Bei diesen Versuchen zeigte sich, daß Natriumacetat in einer Menge von 0,5 % zugesetzt werden mußte, um signifikante Wachstumshemmung aller drei Teststämme zu bewirken. Um alle drei Teststämme vollständig in ihrem Wachstum hemmen zu können, wurde bei 5 % Kochsalz und pH 5,5 Natriumacetat in einer 2 %igen Konzentration benötigt, bei niedrigeren Kochsalzkonzentrationen und pH 5,5 mehr als 4 % Natriumacetat. Auch bei einem pH-Wert des Substrates von 5,5 werden also wesentlich höhere als gesetzlich zugelassene und vermutlich geschmacklich vertretbare Natriumacetatkonzentrationen zur Erreichung einer vollständigen Wachstumshemmung aerober Sporenbildner benötigt. Der bei Brühwurst zu erwartende pH-Wert von 6,0 und höher läßt in der rezepturmäßigen Kombination mit Kochsalz und zugelassenen Acetatkonzentration keine vollständige Wachstumshemmung von Keimen der Gattung *Bacillus* erwarten.

9.) Kombination Kochsalz/Natriumdiacetat/pH 5,5 und 6,0

Bei Senkung des pH-Wertes auf 5,5 und 6,0 wurden noch geringere Salzkonzentrationen benötigt, um das Wachstum der Teststämme signifikant oder vollständig zu hemmen als bei dem Salzzusatz allein oder den Zweifachkombinationen. Es ist also von Kochsalz/Natriumdiacetatkombinationen in Brühwürsten eine Wachstumshemmende Wirkung auf Keime der Gattung *Bacillus* zu erwarten.

E Schlußfolgerung

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß nach den Untersuchungsergebnissen bestimmte pH-Wert-Bereiche, bestimmte Salzkonzentrationen und bestimmte Kombinationen aus diesen Komponenten in definierten Nährmedien in der Lage waren, das Wachstum der Teststämme in unterschiedlichem Ausmaß signifikant zu hemmen oder vollständig auszuschließen. Dabei bestanden innerhalb der Gattung *Bacillus* deutliche Artunterschiede. Die Projektion dieser Ergebnisse auf die praktischen Belange der Fleischwarenerstellung läßt den Schluß zu, daß für Sülze durch tiefen pH-Wert, für Rohwürste durch Zusammenwirken von Kochsalz in höherer Konzentration bei tiefem pH-Wert und für Brühwürste durch Verwendung von Natriumdiacetat als Kutterhilfsmittel - besonders bei Kombination mit Kochsalz und tiefen pH-Werten - eine Wirkung erwartet werden kann.

In der Gesamtheit gesehen muß aber aus den Untersuchungsergebnissen der Schluß gezogen werden, daß die pH-Wert- und Salzwirkung auf Keime der Gattung *Bacillus* hinsichtlich einer vollständigen Wachstumshemmung nicht überschätzt werden darf.

Es bleibt zu erwarten, ob die gefundenen Ergebnisse unter praxisnahen Verhältnissen im Fleischerzeugnis reproduzierbar sind.

Außer der Überprüfung der Wirksamkeit erfolgversprechender Einzelkomponenten und Kombinationen unter praktischen Bedingungen muß noch untersucht werden, inwieweit die wachstumshemmende Wirkung mit einer Veränderung der Wasseraktivität des Substrates in Verbindung steht und ob möglicherweise eine Fermenthemmung (Lipase, Protease) einer Wachstumshemmung vorangeht.

Darüberhinaus sind noch die übrigen, nach der Fleischverordnung zugelassenen Hilfsstoffe unter gleichen Versuchsbedingungen auf ihre Wirksamkeit zu überprüfen.

F Zusammenfassung

Nach einem eingehenden Literaturstudium über den Einfluß von pH-Werten, in der Fleischtechnologie verwendeten Hilfsstoffen und technologischen Verfahren auf aerobe Sporenbildner wurde in eigenen Untersuchungen der Einfluß verschiedener pH-Werte, Kochsalz-, Natriumacetat- und Natriumdiacetatkonzentrationen in Einzel- und Kombinationswirkung auf das Wachstumsvermögen von drei Stämmen aerob wachsender Bazillusarten (*Bac. cereus*, *Bac. subtilis*, *Bac. circulans*) untersucht, wobei die Versuche so angelegt wurden, daß eine statistische Auswertung der Ergebnisse möglich war.

Die Untersuchungen hatten folgendes Ergebnis:

Steigende Salzkonzentrationen und sinkende pH-Werte führten zu zunehmender Koloniezahlreduktion bis hin zur vollständigen Wachstumshemmung, wobei die drei Teststämme unterschiedliche Resistenz aufwiesen. Der *Bac. subtilis*-Stamm war in allen Versuchen der resistenteste der drei Teststämme.

Bei der Auswertung der Versuchsergebnisse zeigten sich große Unterschiede zwischen den Salzkonzentrationen bzw. pH-Werten, mit denen signifikante und mit denen vollständige Wachstumshemmung der Teststämme erreicht werden konnte.

Vollständige Wachstumshemmung wurde erzielt mit:

	<i>Bac. cereus</i>	<i>Bac. subtilis</i>	<i>Bac. circulans</i>
pH-Wert	5,0	4,2	4,6
Kochsalz	7,0 %	10,0 %	7,0 %
Natriumacetat	2,0 %	7,0 %	7,0 %
Natriumdiacetat	0,12 %	0,12 %	0,1 %
Kochsalz/pH-Wert	1 %/5,0	1 %/4,5	1 %/5,0
	5 %/6,0	5 %/5,0	5 %/6,0

	Bac. cereus	Bac. subtilis	Bac. circulans
Kochsalz/ Natriumacetat	1 %/2 % 3 %/6 % 5 %/4 %	1 %/8 % 3 %/6 % 5 %/4 %	1 %/6 % 5 %/2 %
Kochsalz/ Natriumdiacetat	1 %/0,10 % 2 %/0,08 % 5 %/0,06 %	5 %/0,1 % 	1 %/0,10 % 2 %/0,06 %
Kochsalz/ Natriumacetat/ pH	1%/2%/5,5 3%/1%/6,0	5%/2%/5,5	2%/4%/6,0 3%/3%/5,5 5%/1%/6,0
Kochsalz/ Natriumdiacetat/ pH	1%/0,06%/5,5 1%/0,08%/6,0	2%/0,08%/5,5 3%/0,06%/5,5 3%/0,08%/6,0 5%/0,06%/6,0	1%/0,06%/6,0

Bei einigen Kombinationen konnte eine wachstumsstimulierende Wirkung von niedrigen Kochsalzkonzentrationen festgestellt werden.

Die Kombinationswirkungen waren nicht in allen Fällen von denjenigen der Einzelfaktoren oder - bei den Dreifachkombinationen - von denjenigen der Zweifachkombinationen signifikant unterschieden.

Die praktischen Auswirkungen der Untersuchungsergebnisse für die Praxis der Fleischwarenherstellung wurden besprochen.

G Literaturverzeichnis

1. Anderson, E.E., Esselen, W.B. jr. und Fellers, C.R. 1949. Effect of acids, salt, sugar and other food ingredients on thermal resistance of *Bac. thermoacidurans*. Food Res. 14, 499-510
2. Bain, N., Hodgkiss, W. und Shewan, J.M. 1957. The bacteriology of salt used in fish curing. Proc. of the 2nd International Symposium on Food Microbiology, Cambridge
3. Baldenius, S. 1954. Untersuchungen über den Einfluß von Temperatur und Kochsalz auf den Bakteriengehalt der Rohwurst. Veter. med. Diss. Gießen
4. Bartels, H. 1952. Richtige Behandlung der Schlachttiere und des Fleisches sowie angewandte Schlachthygiene als Voraussetzung für Qualität und Haltbarkeit des Fleisches. Fleischwirtschaft 4, 194-196
5. Bartels, H. und Klemm, G. 1962. Die hygienische Bedeutung des Schlachtens von Rindern im Hängen. Fleischwirtschaft 14, 645-648
6. Barth, W. 1960. Welchen Einfluß haben pH-Wert, Kochsalz und Nitrit auf die Bakterienflora des Rohwurstbrätes? Veter. med. Diss. Berlin
7. Bauer, K. 1960. Über Erweichungsherde in Dosenwürstchen unter besonderer Berücksichtigung des lufthaltigen Kopfraumes der Dosen. Veter. med. Diss. München
8. Beauverie, J. 1916. Nouvelles expériences sur l'influence qu'exerce la pression osmotique sur les bactéries. C.R. Acad. des Sciences T. 163, 769-772
9. Bengs, H. und Scheibner, G. 1969. Untersuchungen über den Verderb von Anchosen im eigenen Saft. Mh. Veter. Med. 24, 180-185
10. Benken, C. 1962. Über den Bakterienbefall der Fleischoberfläche des Rindes während des Ausschachtens. Veter. med. Diss. Berlin
11. Bentler, W. 1963. Über einen Fall von unspezifischer Lebensmittelvergiftung nach Genuß sogenannter Sterilmilch. Arch. Lebensmittelhyg. 14, 51-52
12. Berry, R.N. 1933. Some new heat resistant, acid tolerant organisms causing spoilage in tomato juice. J. Bacteriol. 25, 72
13. Berry, J.A. und Magoon, C.A. 1934. Growth of microorganisms at and below 0°C. Phytopath. 24, 780-796
14. Boese, W. 1955. Studien über den *Bac. mesentericus*. Erg. Hyg. 29, 39-83
15. Breed, R., Murray, E. und Smith, N. 1957. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 7. Auflage, Baltimore

16. Briggs, A. 1966. The resistance of spores of the genus *Bacillus* to phenol, heat and radiation. J. Appl. Bacteriol. 29, 490-504
17. Burcik, E. 1950. Über die Beziehungen zwischen Hydratur und Wachstum bei Bakterien und Hefen. Arch. Mikrobiol. 15, 203-235
18. Burdon, K.L. 1956. Useful criteria for the identification of *Bac. anthracis* and related species. J. Bacteriol. 71, 25-42
19. Carls, H. 1958. Versuche zur Zusammensetzung eines Darmbehandlungsmittels aus Milch-, Wein-, Essig- und Zitronensäure und deren Na-Salzen. Veter. med. Diss. Gießen
20. Castellani, A.O. und Niven, C.F. 1955. Factors affecting the bacteriostatic action of sodium nitrate. Appl. Microbiol. 3, 154-159
21. Christian, J.H.B. und Waltho, J.A. 1962. The water relations of *Staphylococci* and *Micrococci*. J. appl. Bacteriol. 25, 369-377
22. Christian, J.H.B. 1963. Water activity and the growth of microorganisms. Recent Advances Food Sci. 3, 248-255
23. Cook, A.M. und Gilbert, R.J. 1969. The effect of sodium chloride on heat resistance and recovery of heated spores of *Bac. stearothermophilus*. J. appl. Bacteriol. 32, 96-102
24. Coretti, K. 1955. Der Keimgehalt von Gewürzen. Fleischwirtschaft 7, 305-308
25. Coretti, K. 1957. Gewürzentkeimung, eine hygienische Notwendigkeit. Zur Entkeimung durch UV-Bestrahlung. Fleischwirtschaft 9, 183-190
26. Jox, R., Sockwell, G. und Landers, B. 1959. *Bac. subtilis* septicämie. Nav Engl. J. Med. 261, 894
27. Curran, H.R. 1931. Influence of osmotic pressure upon spore germination. J. Bacteriol. 21, 197-209
28. Curran, H.R. 1952. Resistance in bacterial spores. In: Symposium on the Biology of Bacterial Spores. Bacteriol. Rev. 16, 89-143
29. Dippell, G. 1964. Untersuchungen über das Darmbleichmittel "Procasin" und das Darmtöne-Zusatzmittel "Casingol". Veter. med. Diss. Gießen
30. Drieux, H. und Labie, C. 1962. Veränderungen von Trockenschinken durch Keime von der Gattung *Bacillus* (aerobe Sporenbildner), vom Salz herunrend. Ref. in Arch. Lebensmittelhyg. 13, 71
31. Dumesh, L.J. 1935. On the halophily and salt tolerance of bacteria. Microbiology, Moscow 4, 45-56

32. Ebeling, K. 1958. Vergleichende Betrachtung des Keimgehaltes der auf Schlachthöfen gereinigten Pansen im Vergleich zu dem Keimgehalt der Schwarten. Veter. med. Diss. Hannover
33. Eddy, B.P. und Ingram, M. 1956. A salttolerant denitrifying *Bacillus* strain which "blows" canned bacon. J. appl. Bacteriol. 19, 62-70
34. Eddy, B.P. 1957. The inhibitory action of nitrite. Proc. of the 2nd International Symposium on Food Microbiology, Cambridge
35. Eisenberg, Ph. 1913. Über die Wirkung von Salzen und Ionen auf Bakterien. C. Bakteriolog. etc. I Abt. Orig. 69, 312
36. El-Bisi, H.M. und Ordal, Z.J. 1956. The effect of certain sporulation conditions on the thermal death rate of *Bac. coagulans* var. *thermoacidurans*. J. Bacteriol. 71, 1-9
37. Elter, B. 1966. Beitrag zum Problem der aeroben Sporenbildner. Z. Ges. Hyg. Grenzgebiete 12, 65
38. Enders, P. 1957. Über das Verhalten der Bazillen der Mesentericus-Subtilis-Gruppe in verschiedenen Nährsubstraten, insbesondere unter Berücksichtigung verschiedener Säuregrade. Veter. med. Diss. Hannover
39. Erickson, F.J. und Fabian, F.W. 1942. Preserving and germicidal actions of various sugars and organic acids on yeasts and bacteria. Food Res. 7, 68-79
40. Evans, F.R. und Curran, H.R. 1960. Influence of preheating, pH and holding temperature upon viability of bacterial spores for long periods in buffer substrates. J. Bacteriol. 79, 361-368
41. Fabian, F.W. und Bryan, C.S. 1933. The influence of cations on aerobic sporogenesis in a liquid medium. J. Bacteriol. 26, 543-558
42. Fabian, F.W., Krehl, C.F. und Little, N.W. 1939. The role of spices in pickled food spoilage. Food. Res. 4, 269-286
43. Fabian, F.W. und Graham, H.T. 1953. Viability of thermophilic bacteria in the presence of varying concentrations of acids, sodium chloride and sugars. Food Technol. 7, 212-217
44. Fabian, F.W. und Winslow, C.E.A. 1929. The influence upon bacterial viability of various anions in combination with sodium. J. Bacteriol. 18, 264-291
45. Falk, I.S. 1923. The rôle of certain ions in bacterial physiology: a review (Studies on salt action). Abstr. Bacteriol. 7, 33-50

46. Fleming, H.P. und Ordal, Z.J. 1964. Responses of *Bac. subtilis* spores to ionic environments during sporulation and germination. *J. Bacteriol.* 88, 1529-1537
47. Frank, H.A. 1955. The influence of cationic environments on the thermal resistance of *Bac. coagulans*. *Food Res.* 20, 315-321
48. Frazier, W.C. 1967. *Food Microbiology*. McGraw-Hill Book Company, New York
49. Glabe, E.F. 1950. A discussion of the characteristics of sodium diacetate as a mold and rope inhibitor. *Trans. Amer. Ass. Cereal Chem.* 8, 53-57
50. Gould, G.W. 1962. Microscopical observations on the emergence of cells of *Bacillus* spp. from spores under different cultural conditions. *J. appl. Bacteriol.* 25, 35-41
51. Gould, G.W. 1964. Effect of food preservatives on the growth of bacteria from spores. *Microbial Inhibitors in Food*, IVth Int. Symp. Microbiol. Almquist and Wiksell, Stockholm
52. Granville, A. und Fievez, C. 1957. Survie des *Bacillus* dans les saumures de viande. *Proc. of the 2nd International Symposium on Food Microbiology*, Cambridge
53. Haenel, H., Goldbach, W., Hoffmann, G., Köhler, F., Müller-Benthow, W., Nikodemusz, I. 1955. Zum Nachweis von Hefen, Staphylokokken, aeroben Sporenbildnern und *Pseudomonas* sowie von Lysozym im Stuhl gesunder Erwachsener. *Zbl. Bakteriologie* 197, 244-255
54. Haines, R.B. 1938. The effect of freezing on bacteria. *Proc. Roy. Soc. B* 124, 451
55. Heckel, E. 1956. Über das Vorkommen von aeroben Bazillen in genußtauglichen Würsten. *Veter. med. Diss. Hannover*
56. Henry, M., Joubert, L. und Goret, P. 1954. Mécanisme biochimique de l'action du nitrite dans la conservation des viandes. Conditions physicochimiques favorables à son action bacteriostatique. *C. R. Soc. Biol.* 148, 819-821
57. Hewitt, L.F. 1957. Influence of hydrogen-ion concentration and oxidation - reduction conditions on bacterial behaviour -. In *Microbial Ecology*, 7th Symposium of the Society for General Microbiology, Cambridge
58. Hilgers, P. 1937. Die Einwirkung des Salpetergehaltes der Pökellake auf die Konservierung des Fleisches. *Veter. med. Diss. Berlin*
59. Hill, M.L. und Fields, M.L. 1967. Factors affecting growth and interaction of rough and smooth variants of *Bac. stearothermophilus*. 1.) Oxygen tension and temperature. *J. Food Sci.* 32, 458-462, 2.) Media and pH. *J. Food Sci.* 32, 463-467

60. Hille, J. 1937. Der Keimgehalt der Gewürze Majoran, weißer Pfeffer, Nelken und seine Bedeutung in der Wurstfabrikation. Veter. med. Diss. Berlin
61. Hobbing, E. 1935. Die bakteriologische Bedeutung der pflanzlichen Gewürze in der Wurst. Tierärztl. Rdsch. 41, 252-255
62. Hoffmann-Osterhof, O. 1954. Enzymologie. Springer-Verlag, Wien
63. Horowitz-Wlassowa, L.M. 1931. Über die Rolle der Bakterienflora der Lake beim Pökeln mit Berücksichtigung der Frage der Halophilie in der Bakterienwelt. Z. U. Lebensm. 62, 596-602
64. Hüttmann, H. 1954. Untersuchungen über den Keimgehalt der in Deutschland üblichen Gewürze und seine Beziehungen zur Entstehung von Fehlfabrikaten. Veter. med. Diss. Hannover
65. Hyatt, M.T. und Levinson, H.S. 1961. Interaction of heat, glucose, l-alanine and potassium nitrate in spore germination of *Bac. megaterium*. J. Bacteriol. 81, 204-211
66. Inal, T. 1965. Vorkommen von aeroben Bazillen in Schafsdärmen und die dadurch bedingten Fehlfabrikate bei der Wurstherstellung. Fleischwirtschaft 45, 933-937
67. Ingram, M. 1939. The endogenous respiration of *Bac. cereus*. I Changes in the rate of respiration with the passage of time. J. Bacteriol. 38, 599-612, II The effect of salts on the rate of absorption of oxygen. J. Bacteriol. 38, 613-629
68. Ingram, M. 1940. The endogenous respiration of *Bac. cereus*. III. The changes in the rate of respiration caused by sodium chloride, in relation to hydrogen-ion concentration. J. Bacteriol. 40, 683-694
69. Ingram, M. 1951. The effect of cold on microorganisms in relation to food. Proc. Soc. appl. Bacteriol. 14, 243-260
70. Ingram, M. 1957. Micro-organisms resisting high concentrations of sugars or salts. In: Microbial Ecology, 7th Symposium of the Society for General Microbiology
71. Ingram, M., Ottaway, F.J.H. und Coppock, J.B.M. 1956. The preservative action of acid substances in food. Chem. and Ind. 1154
72. Ingram, M. und Kitchell, A.G. 1967. Salt as a preservative for foods. J. Food Technol. 2, 1-15
73. Iyer, V. und Bhat, T.V. 1955. Observations on the taxonomy of the genus *Bacillus*. Arch. Mikrobiol. 23, 88
74. Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A. 1963. Medizinische Mikrobiologie. Springer Verlag, Berlin

75. Jensen, L.B. 1954. The microbiology of meats. 3. Auflage. The Garrard Press, Publishers Champaign, Illinois
76. Kammer, I. 1961. Über die besonderen Eigenschaften der aeroben Bazillen in Gewürzen unter besonderer Berücksichtigung der Eiweißzersetzung. Veter. med. Diss. Hannover
77. v. Karaffa-Korbitt, K. 1912. Zur Frage des Einflusses des Kochsalzes auf die Lebenstätigkeit der Mikroorganismen. Z. Hyg. Infektionskrankh. 71, 161-171
78. Karlson, P. 1967. Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. 6. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart
79. Kelch, F. 1961. Über die Differenzierung von Bazillen, die aus Dosenschinken isoliert wurden. Fleischwirtschaft 13, 294-296
80. Kelch, F. und Bühlmann, X. 1958. Der Einfluß handelsüblicher Phosphate auf das Wachstum von Mikroorganismen. Fleischwirtschaft 5, 325-328
81. Kiss, P. 1963. Über eine durch Bac. cereus verursachte Lebensmittelvergiftung. Ref. in: Zbl. Bakt. I Ref. 187, 217
82. Klein, D. 1968. Zur hygienischen Bedeutung der maschinellen Enthäutung geschlachteten Rinder. Veter. med. Diss. Gießen
83. Kniewallner, K. und Haas, J. 1962. Lebensmittelvergiftung durch aerobe Bazillen aus der Sphaericus-Gruppe. Arch. Lebensmittelhyg. 13, 153-154
84. Knight, B.C. und Proom, H. 1950. A comparative survey of the nutrition and physiology of mesophilic species in the genus Bacillus. J. gen. Microbiol. 4, 508-538
85. Koller, R. 1941. Salz, Rauch und Fleisch. Verlag "Das Bergland-Buch", Salzburg
86. Kolthoff, I.M. 1925. De beteezenis van pH voor de bacteriologie. Tijdschr. Vergelijk. Geneeskunde 11, 268-277
87. Kosiba, E., Kowalewski, W. und Müller, H. 1968. Polyphosphate und ihre bakteriostatischen Eigenschaften. Roczniki Instytutu Przemysłu Mięsnego 5, 23. Ref. in: Fleischwirtschaft 48, 1497 (1968)
88. Kotter, L. 1961. Grundsätzliches über die Wirkung der Phosphate auf das Brühwurstbrät. Fleischwirtschaft 13, 186-188
89. Kotter, L. und Terplan, G. 1958. Zur Änderung der Lebensfähigkeit von Mikroorganismen durch den Einfluß von Salzen. Arch. Lebensmittelhyg. 9, 60-63

90. Kraus, H. 1959. Proteolyten in der Lebensmittelhygiene. 1. Mitt.: Definition und Eigenschaften der Proteolyten. Arch. Lebensmittelhyg. 10, 276-281
91. Kundrat, W. 1963. Zur Differenzierung aerober Sporenbildner (Genus *Bacillus* Cohn). Zbl. Veter. Med. Reihe B 10, 418-426
92. Larkin, J.M. 1967. Taxonomy of psychrophilic strains of *Bacillus*. J. Bacteriol. 94, 889-895
93. Larkin, J.M. und Stokes, L.J. 1966. Isolation of psychrophilic species of *Bacillus*. J. Bacteriol. 91, 1667-1671
94. Lerche, M. 1952. Bombageerreger in Saitlingen. Fleischwirtschaft 4, 7-8
95. Lerche, M. 1956. Mikrobiotische Vorgänge bei der Rohwurstreifung. Fleischwirtschaft 8, 752-754
96. Lerche, M., Rievel, H. und Goerttler, V. 1957. Lehrbuch der tierärztlichen Lebensmittelüberwachung. 3. Auflage. Verlag M. & H. Schaper, Hannover
97. Levine, A.S. und Fellers, C.R. 1940a. Action of acetic acid on food spoilage microorganisms. J. Bacteriol. 39, 499-514
98. Levine, A.S. und Fellers, C.R. 1940b. Inhibiting effect of acetic acid upon microorganisms in the presence of sodium chloride and sucrose. J. Bacteriol. 40, 255-269
99. Lindsey, G.A. und Rhines, C.M. 1932. The production of hydroxylamine by the reduction of nitrate and nitrite by various pure cultures of bacteria. J. Bacteriol. 24, 489-492
100. Lochmann, E.H. 1955. Untersuchungen über die Resistenz der Bazillen der Mesentericus-Subtilis-Gruppe gegen verschiedene pH-Werte. Arch. Lebensmittelhyg. 6, 279-280
101. Märzendörfer, M. 1954. Direkte und indirekte Keimzahlbestimmungen des Duodenum- und Rektuminhaltes von Rindern, sowie der Faeces von Menschen, unter besonderer Berücksichtigung der Zahl der Kolibakterien, Streptokokken und aeroben Sporenbildnern. Veter. med. Diss. München
102. Maki, C.R. and Picard, K. 1965. Normal intestinal flora of cattle fed high-roughage rations. J. Bacteriol. 89, 1244-1249
103. Michener, H.D. und Elliott, R.P. 1964. Minimum growth temperatures for food-poisoning, fecal-indicator and psychrophilic microorganisms. Adv. Food Res. 13, 349-396
104. Morris, E.O. 1962. Effect of environment on microorganisms. In Rec. Adv. Food Sci. 1962, 24-35

105. Mossel, D.A.A. 1956. Aufgaben und Durchführung der modernen hygienisch-bakteriologischen Lebensmittelüberwachung. Wien. Tierärztl. Mschr. 43, 321-340 und 596-610
106. Mossel, D.A.A. und Ingram, K. 1955. The physiology of the microbial spoilage of foods. J. Appl. Microbiol. 18, 232-268
107. Mossel, D.A.A. und van Kuijk, H.J.L. 1955. A new and simple technique for the direct determination of the equilibrium relative humidity of foods. Food Res. 20, 415-423
108. Murdock, D.I. 1950. Inhibitory action of citric acid on tomato juice flat-sour organisms. Food Res. 15, 107-113
109. Neemann, H. 1955. Zur Beeinflussung der Bazillen der Mesentericus-Subtilis-Gruppe in Rohwurst durch Kochsalz unter Berücksichtigung verschiedener Aufbewahrungstemperaturen. Veter. med. Diss. Hannover
110. Niinivaara, F.P. 1955. Über den Einfluß von Bakterienreinkulturen auf die Reifung und Umrötung der Rohwurst. Fleischwirtschaft 7, 603-605
111. Nikodémusz, I. 1958. Bacillus cereus als Ursache von Lebensmittelvergiftungen. Zschr. Hyg. 145, 335
112. Nikodémusz, I. 1961. Bac. cereus als fakultativer Krankheitserreger. Rev. Med. Chir. Iasi 45/2, 383. Ref. in: Zbl. Bakt. I Ref. 186, 67 (1962)
113. Nikodémusz, I. 1962. Über einen neuen Elektivnährboden, der zur Isolierung von Bac. cereus aus Mischflora geeignet ist. Arch. Lebensmittelhyg. 13, 56-58
114. Nikodémusz, I. und Csaba, K. 1959. Die Bedeutung der aeroben Sporenbildner bei Lebensmittelvergiftungen. Z. Hyg. 146, 156
115. Nikodémusz, I. und Bouquet, D. 1961. Hygienisch-epidemiologische und bakteriologische Untersuchungen bei einer durch Bac. cereus verursachten Lebensmittelvergiftung. Z. Hyg. 147, 327
116. N.N. 1934. Gesetz über die Verwendung salpetrigsaurer Salze im Lebensmittelverkehr (Nitritgesetz) vom 19. Juli 1934. Reichsgesetzblatt I, S. 513
117. N.N. 1957. International bulletin of bacteriological nomenclature and taxonomy. Official organ of the judicia commission and of the international committee of bacteriological nomenclature. Iowa 6-8 (7), 121, 1956-1958
118. N.N. 1968. Gesetz über den Verkehr mit Lebensmitteln und Bedarfsgegenständen vom 5. Juli 1927 in der Fassung vom 24.5.1968 (Bundesgesetzblatt I S. 503)

119. N.H. 1969. Verordnung über Fleisch und Fleischerzeugnisse vom 19. Dezember 1959 in der Fassung vom 11. Dezember 1969 (Bundesgesetzblatt I S. 2191)
120. Nurnheimer, T.D. und Fabian, F.W. 1940. Influence of organic acids, sugars and sodium chloride upon strains of food poisoning staphylococci. Am. J. Pub. Health 30, 1040-1049
121. Oesterle, G. 1952. Beitrag zur Pathogenität der aeroben Sporenbildner in der Augenheilkunde. Klin. Mbl. Augenheilk. 120, 246
122. Pesti, L. 1963. Qualitative und quantitative examination of the intestinal bacterium flora of healthy pigs. Zbl. Bakt. Abt. I, Orig. 189, 282-293
123. Petrowa, E.K. 1933. Mikrobiologie des Kochsalzes. Arch. Mikrobiol. 4, 326-347
124. Petterson 1900. Experimentelle Untersuchungen über das Konservieren von Fischen und Fleisch mit Salz. Arch. Hyg. 37, 171 (zit. nach Karaffa-Korbutt)
125. Popović, P. 1965. Bombage von Dosenwürstchen durch aerobe Bazillen. Technologija mesa 7-8, 210
126. Put, M.C. und Wybinga, S.J. 1963. The occurrence of Bac. coagulans with high heat resistance. J. appl. Bacteriol. 26, 428-434
127. Put, M.C. und Aalbersberg, W.I.J. 1967. Occurrence of Bacillus subtilis with high heat resistance. J. appl. Bacteriol. 30, 411-419
128. Reed, H.S. und Reynolds, R.R. 1916. Some effects of temperature upon the growth and activity of bacteria in milk. Va. Agr. Expt. Sta. Tech. Bul. 10 (zit. nach Berry und Magoon)
129. Reid, J.D. 1932. The disinfectant action of certain organic acids. Am. J. Hyg. 16, 540-556
130. Rice, A.L. und Pederson, C.S. 1954. Factors influencing growth of Bac. coagulans in canned tomato juice. II. Acidic constituents of tomato juice and specific organic acids. Food Res. 19, 124-133
131. Riemann, H. 1963. Safe heat processing of canned cured meats with regard to bacterial spores. Food Technol. 17, 39-49
132. Ristic, M., Tadic, Z. und Tarle, M. 1967. Causes of canned ham deterioration. Technologija mesa 8, 34-37
133. Roberts, T.A. und Ingram, M. 1966. The effect of sodium chloride, potassium nitrate and sodium nitrite on the recovery of heated bacterial spores. J. Food Technol. 1, 147-163

134. Rockwell, E. und Ebertz, E.G. 1924. How salt preserves.
J. Inf. Dis. 35, 573
135. Roemmele, O. und v.d. Wall, G. 1961. Experimentelle
vergleichende bakteriologische Untersuchungen über die
bakteriziden Eigenschaften von Säuren, insbesondere
von Essig, gegenüber Salmonellen und anderen Bak-
terien. Arch. Lebensmittelhyg. 12, 61-65
136. Römpf, H. 1962. Chemie Lexikon. 5. Auflage. Franckh'sche
Verlagsbuchhandlung, Stuttgart
137. Sammet, O. 1911. Über verdorbene Fischkonserven in Büch-
sen. Hyg. Rdsch. 21, 1013
138. Sauter, W. 1958. Untersuchungen über ein neues Darmbe-
handlungsmittel zur Sterilisation von Naturdärmen.
Veter. med. Diss. Gießen
139. Scheer, H. 1964. Über das Verhalten von Bakteriensporen
in Essig- und Kochsalzlösungen. Inform. Fischwirt-
schaft 11, Nr. 1 S. 48-54
140. Scheidner, G. 1965. Untersuchungen über das Wachstums-
spektrum lebensmittelhygienisch wichtiger Bakterien-
arten. Fleischermeister 19, 312-314
141. Scheidner, G. 1967. Untersuchungen an Brühwurst-Halbkon-
serven. I Keimgehalt und Verderbnis. Mh. Veter. Med.
22, 628-632. II Einige lebensmittelhygienisch wichtige
Eigenschaften der isolierten aeroben Sporenbildner.
Mh. Veter. Med. 22, 666-670
142. Schmidt-Lorenz, W. 1970. Psychrophile Mikroorganismen
und tiefgefrorene Lebensmittel. Alimenta 9, 32-45
143. Schönberg, F. 1953. Die Bedeutung schwer abtötbarer
Mikroorganismen, insbesondere aerober Sporenbildner
für die Fleisch-, Fisch- und Milchwirtschaft und Vor-
schläge zu ihrer wirksamen Bekämpfung. Dtsch. tier-
ärztl. Wschr. 60, 351-353
144. Schonberg, F. und Walz, E. 1954. Der Einfluß von Tempera-
tur und Kochsalz auf die Bazillen der Mesentericus-Sub-
tilis-Gruppe und seine Beziehung zur Entstehung der
Beißigkeit und Kernfäulnis bei den Rohwürsten. Fleisch-
wirtschaft 6, 33-35
145. Schönberg, F. und Walz, E. 1958. Erweichung und Zer-
setzung von Mortadella in Dosen. Fleischwirtschaft
10, 320-323
146. Schoop, G. 1933. Salz und Bakterien. Habilitations-
schrift Hannover
147. Schwarz, G. und Ciblis, E. 1965. Untersuchungen zur Fest-
stellung der durch Mikroorganismen verursachten Fehler
von Sauerrahmbutter. Kiel. Milchw. Forsch. Ber. 17,
137-173

148. Scott, W.J. 1955. Factors in canned ham controlling *Cl. botulinum* and *Staph. aureus*. Ann. Inst. Pasteur Lille 7, 68-73
149. Scott, W.J. 1957. Water relations of food spoilage microorganisms. Adv. Food Res. 7, 83-127
150. Seidel, G. und Schulz, C. 1963. Untersuchungen des Veterinäruntersuchungs- und Tiergesundheitsamtes Berlin über bakterielle Lebensmittelvergiftungen in den Jahren 1960/62. Arch. Lebensmittelhyg. 14, 194-196
151. Smith, N.R., Gordon, E.R. und Clark, F.E. 1952. Aerobic sporeforming bacteria. Agriculture Monograph Nr. 16, US Department of Agriculture, Washington
152. Souci, S.W. und Mergenthaler, E. 1958. Fremdstoffe in Lebensmitteln. Verlag J.F. Bergmann, München
153. Stearn, W. und Stearn, A.E. 1933. The effect of the reaction of the medium on the characteristics of bacteria. I General presentation of the problem and results obtained with *Bac. coli-communior*, *Salmonella enteritidis* and *Pseudomonas pyocyanea*. J. Bacteriol. 26, 9-36. II Behaviour of *Bac. subtilis*. J. Bacteriol. 26, 37-56. III Behaviour of *Bac. cereus*. J. Bacteriol. 26, 57-75
154. Stumbo, C.R. 1965. Thermobacteriology in Food Processing. Academic Press, New York - London
155. Suermann, H. 1937. Untersuchungen über die pH-Zahl und die Bakterienflora des Darminhaltes in den einzelnen Darmabschnitten im gesunden Zustand geschlachteter und notgeschlachteter Kälber und Kühe. Ein Beitrag zur Epidemiologie der Fleischvergiftungen. Veter. med. Diss. Hannover
156. Summermatter, P. 1958. Massenerweichung der Wursthülle bei Bratwürsten in Dosen durch *Bac. subtilis*. Arch. Lebensmittelhyg. 9, 227-229
157. Tarr, H.L.A. 1941. The bacteriostatic action of nitrites. Nature 147, 417-418
158. Turner, M. und Jervis, D.I. 1968. Salt tolerance in pigmented and nonpigmented strains of *Bacillus* species isolated from soil. J. appl. Bacteriol. 31, 373-377
159. Viljoen, J.A. 1926. Heat resistance studies. II The protective effect of NaCl on bacterial spores heated in pea liquor. J. Inf. Diseases 39, 286-290
160. Walz, E. 1955. Rohwurstfehlfabrikate durch Schwitzrauch nehmen nicht ab. Arch. Lebensmittelhyg. 6, 124-125
161. Walz, E. 1956. Über den Keimgehalt im Handel erhältlicher "entkeimter" Gewürze. Arch. Lebensmittelhyg. 7, 199-204

162. Walz, E. 1957. Die Bedeutung der aeroben Sporenbildner für die Fleischwirtschaft, insbesondere für Dauerwaren, Halbkonserven und Rohwürste. Habil. Schrift Hannover
163. Westphal, W. 1943. Bakterienvorkommen in gesalzenen Därmen. Fleischwirtschaft 23, 31-32
164. Wexler, A. und Hasegawa, S. 1954. Relative humidity-temperature relationship of some saturated salt solutions in the temperature range 0°C to 50°C. J. Food Res. of the National Bureau of Standards 53, 19-26
165. Wildführ, G. 1964. Medizinische Mikrobiologie und Immunologie. Teil I Leipzig
166. Williams, O.B. 1929. The heat resistance of bacterial spores. J. Infectious Diseases 44, 421-465
167. Williams, O.B. und Hennessee, A.D. 1956. Studies on heat resistance. VII The effect of phosphate on the apparent heat resistance of spores of Bac. stearothermophilus. Food Res. 21, 112-116
168. Wilson, G.S. und Miles, A.A. 1955. Principles of bacteriology and immunity. 4. Auflage, London (reprinted 1961)
169. Wilssens, A. und Buttiaux, R. 1958. Les bactéries de la flore fécale de la vache saine. Ann. Inst. Pasteur 94, 332-340
170. Winslow, C.E.A. und Haywood, E.T. 1931. The specific potency of certain cations with reference to their effect on bacterial viability. J. Bacteriol. 22, 49-69
171. Wirz, K.H. 1961. Untersuchungen über die Wirkung von Pyrophosphat auf das Verhalten von Mikroorganismen. Veter. med. Diss. München
172. Wolperth, H. 1960. Prüfung von 4 Brätzusatzmitteln auf ihre Verwendbarkeit zur Brühwurstherstellung. Veter. med. Diss. Gießen
173. Wynne, A.M. 1931. Inhibition of the acetone-butyl alcohol fermentation by acids. J. Bacteriol. 22, 209-237
174. Yesair, J. und Williams, O.B. 1942. Spice contamination and its control. Food Res. 7, 118-126
175. Youland, G.C. und Stumbo, C.R. 1953. Resistance values reflecting the order of death of spores of Bac. coagulans subjected to moist heat. Food Technol. 7, 286-291
176. Zakula, R. 1969a Einflüsse auf die Hitzebeständigkeit der Bakterien bei Sterilisationsvorgängen. Fleisch 23, 40-41

177. Zakula, R. 1969^b. Results on investigations of thermo-resistance of some bacteria suspended in meat, lard and tallow. 15th European Meeting of Meat Research Workers, Helsinki
178. Zatocil, O. 1963. Zur Frage der Nitritwirkung in Fleischwaren. Fleischwirtschaft 15, 798-803
179. Zeller, M. 1963. Über die Bedeutung aerober Sporenbildner als Ecmageerreger von Würstchenkonserven. Arch. Lebensmittelhyg. 14, 104-108

Nach Abschluß meiner Arbeit möchte ich meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. H. Bartels, für die Überlassung des Themas im Rahmen der Schwerpunktarbeit des Institutes auf mikrobiologischem Gebiet und die großzügige Unterstützung meinen aufrichtigen Dank aussprechen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. R. Hadlok für die jederzeit gern gewährte Beratung und wertvolle Anleitung. Außerdem danke ich Herrn Priv. Doz. Dr. R. Repges, Biomathematische Abteilung des Institutes für Biochemie und Endokrinologie, für die Anleitung bei den statistischen Berechnungen sehr.

Weiterhin danke ich allen Angehörigen des Institutes für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde der Justus-Liebig-Universität, die mir bei der Durchführung meiner experimentellen Arbeiten behilflich waren.

Lebenslauf

Am 6. Februar 1944 wurde ich als Tochter des Tierarztes Dr. Martin Franksen und seiner Ehefrau Elsbeth geb. Müller in Peine geboren. Ab Ostern 1950 besuchte ich die Grundschule, ab Ostern 1954 das Gymnasium für Mädchen in Peine, wo ich im März 1963 die Reifeprüfung ablegte. Mit dem Sommersemester 1963 begann ich, in Gießen Veterinärmedizin zu studieren. Nach dem Bestehen der Tierärztlichen Vorprüfung (April 1965) studierte ich zwei Semester an der Tierärztlichen Hochschule in Hannover und kehrte zum Sommersemester 1966 wieder nach Gießen zurück. Hier bestand ich am 1. Februar 1968 die Tierärztliche Prüfung. Nach der Praktikantenzeit, die ich bei Herrn Dr. Steinbach in Weilburg ableistete, erhielt ich am 1. September 1968 die Approbation als Tierärztin. Seit September 1968 bin ich als Verwalterin einer wissenschaftlichen Assistentenstelle am Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde der Justus Liebig-Universität in Gießen tätig.

